

EVALUACIÓN DE LA DIVERGENCIA INTERPOBLACIONAL EN *Espeletia pycnophylla* Cuatrec., MEDIANTE UNA APROXIMACION MORFOGEOMÉTRICA EN PARAMOS DE NARIÑO

IVÁN FELIPE BENAVIDES MARTÍNEZ

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
SAN JUAN DE PASTO
2010

EVALUACIÓN DE LA DIVERGENCIA INTERPOBLACIONAL EN *Espeletia pycnophylla* Cuatrec., MEDIANTE UNA APROXIMACION MORFOGEOMÉTRICA EN PARAMOS DE NARIÑO

Trabajo de grado para obtener el título de Biólogo

Por:

IVÁN FELIPE BENAVIDES MARTÍNEZ

En convenio con

CORPONARIÑO e IDEA WILD

Directora

AYDA LUCIA PATIÑO M.Sc.

Universidad de Nariño

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
SAN JUAN DE PASTO
2010

“Las ideas y conclusiones aportadas en el trabajo de grado, son responsabilidad exclusiva de su autor”. Artículo 1° del acuerdo No. 324 de octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de Aceptación

Directora

Jurado

Jurado

San Juan de Pasto, Noviembre de 2010

AGRADECIMIENTOS

Mi infinita gratitud hacia mis tutores y amigos; Ayda Lucía Patiño, Belisario Cepeda, María Elena Solarte, John Jairo Calderón, Rodrigo Prieto, Aida Elena Bacca, Jason Rauscher, Roger Sepúlveda, Roperto Cipriani, Carlos Torres, Victor Solarte y Martha Sofía Gonzales, quienes cultivaron en mí el interés por la investigación y fueron los principales gestores de mi formación académico-científica.

A Germán Narváz y el grupo TERRAE de la Universidad de Nariño por su imprescindible apoyo logístico; a IDEA WILD y CORPONARIÑO por su apoyo financiero; a Parques Nacionales Naturales de Colombia, Juan Carlos Arteaga de la Subdirección de Intervenciones para la sostenibilidad ambiental de CORPONARIÑO y a Jorge Bedoya de la Reserva Natural Pueblo Viejo, por los respectivos permisos de investigación.

A mi familia por su continuo y abnegado apoyo, a mis amigos por su constante inspiración, fruto esas largas tertulias enriquecedoras y a usted, quien honra mi trabajo con su lectura.

A Dios, autor y fuente de todo conocimiento
y a quienes puso en mi camino durante
este maravilloso proceso

TABLA DE CONTENIDO

	Pág
INTRODUCCIÓN	14
1 OBJETIVOS	17
1.1 OBJETIVO GENERAL	17
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
2. ANTECEDENTES	18
3. MARCO TEORICO	21
3.1 ALGUNAS CARACTERÍSTICAS RELEVANTES DE LOS ECOSISTEMAS DE PÁRAMO	22
3.2 LOS PÁRAMOS EN NARIÑO Y SU CLASIFICACIÓN	22
3.3 CLASIFICACIÓN DE LOS PÁRAMOS DE NARIÑO SEGÚN CRITERIOS ÚNICAMENTE BIOGEOGRÁFICOS	23
3.3.1 Complejo 1. Páramos de la cima de la cordillera Occidental	23
3.3.2 Complejo 2. Páramos de la cima de la cordillera Centro-Oriental	23
3.3.3 Complejo 3. Páramos intra-Andinos	23
3.3.4 Páramos azonales	24
3.4 CLASIFICACIÓN DE LOS PÁRAMOS DE NARIÑO SEGÚN CRITERIOS BIOGEOGRÁFICOS, POLÍTICO-ADMINISTRATIVOS, DE INTERVENCIÓN HUMANA Y DINÁMICAS POBLACIONALES	24
3.4.1 Zona de páramos del norte del departamento de Nariño	24
3.4.2 Zona de páramos del centro del departamento de Nariño	25
3.4.3 Zona de páramos del suroriente del departamento de Nariño	25
3.4.4 Zona de páramos del suroccidente del departamento de Nariño	26
3.5 EL COMPLEJO <i>Espeletia</i>	27
3.6 EVOLUCIÓN Y DISPERSIÓN DEL COMPLEJO <i>Espeletia</i>	28
3.7 EL ANÁLISIS ELÍPTICO DE FOURIER	29
3.8 EL ANÁLISIS ELÍPTICO DE FOURIER COMO HERRAMIENTA PARA RESPONDER PREGUNTAS SOBRE DIVERGENCIA POBLACIONAL EN ESPECIES VEGETALES	30
4. MATERIALES Y MÉTODOS	33
4.1 <i>Espeletia pycnophylla</i> Cuatrec.	33
4.2. <i>Espeletia schultesiana</i> Cuatrec. (ESPECIE DE REFERENCIA U OUTGROUP)	34
4.3 POBLACIONES DE ESTUDIO	34
4.4 CARACTERÍSTICAS DE LAS POBLACIONES SELECCIONADAS	38
4.4.1 Población Chiles-Cumbal (PCC):	39
4.4.2 Población de Azufra-Gualcalá (PAG):	39
4.4.3 Población del Páramo de Paja Blanca (PPB):	39
4.4.4 Población del Páramo del volcán Galeras (PVG):	39

4.4.5 Población de El Tábano (PET):	40
4.4.6 Población de los Páramos Azonales de la Cocha (PAC):	40
4.4.7 Población del Páramo del Cerro Bordoncillo (PCB)	40
4.5 DISEÑO Y MUESTREO	41
4.6 CAPTURA DE FOTOGRAFÍAS	42
4.7 ANÁLISIS MORFOMÉTRICO	43
4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	44
4.8.1 Variación interpoblacional	45
4.8.2 Relación entre variación morfométrica y distancia geográfica	45
4.8.3 Relación entre tamaño del área poblacional y variación morfométrica intrapoblacional	48
5. RESULTADOS	49
5.1 ANÁLISIS MORFOMÉTRICO	49
5.2 VARIACIÓN Y DIVERGENCIA INTERPOBLACIONAL (ENTRE POBLACIONES)	52
5.3 RELACIÓN ENTRE VARIACIÓN MORFOMÉTRICA Y DISTANCIA GEOGRÁFICA	56
5.4 RELACIÓN ENTRE TAMAÑO DEL ÁREA POBLACIONAL Y VARIACIÓN MORFOMÉTRICA INTRAPOBLACIONAL (DENTRO DE POBLACIONES)	61
5.5 COMPARACIÓN ENTRE FORMA FOLIAR Y ÁREA FOLIAR COMO MÉTODO TRADICIONAL	63
6. DISCUSIÓN	65
6.1 VARIACIÓN INTERPOBLACIONAL (ENTRE POBLACIONES)	65
6.2 RELACIÓN ENTRE VARIACIÓN MORFOMÉTRICA, DISTANCIA GEOGRÁFICA Y PATRONES PALEO GEOGRÁFICOS DE FRAGMENTACIÓN DE ÁREAS DE DISTRIBUCIÓN (ANEXO 1) ¿EVIDENCIAS DE VICARIANZA?	68
6.3 POSIBLES EXPLICACIONES A LAS CORRELACIONES ENCONTRADAS	69
6.4 RELACIÓN ENTRE TAMAÑO DEL ÁREA POBLACIONAL Y VARIACIÓN MORFOMÉTRICA INTRAPOBLACIONAL	70
6.5 ¿ES <i>Espeletia schultesiana</i> UNA ESPECIE DIFERENTE?	71
6.6 APORTES HACIA UNA DIAGNOSIS Y CONSERVACIÓN DE ZONAS DE PÁRAMO Y POBLACIONES DE <i>Espeletia pycnophylla</i> POTENCIALMENTE EN RIESGO	72
7. CONCLUSIONES	74
8. RECOMENDACIONES	45
LITERATURA CITADA	77
ANEXOS	86

LISTA DE FIGURAS

	Pág	
Figura 1	<i>Espeletia pycnophylla</i>	33
Figura 2	Individuos de <i>Espeletia schultesiana</i> en el Páramo de Bordoncillo.	34
Figura 3	Algunos individuos de <i>Espeletia pycnophylla</i> en diferentes Páramos de Nariño	35
Figura 4	Ubicación geográfica de las ocho poblaciones de estudio	36
Figura 5	Ejemplo de la medición de distancias biogeográficas (β_{ij})	37
Figura 6	Esquema de un individuo adulto de <i>E. pycnophylla</i> y el tipo de hojas muestreadas según su disposición y desarrollo	42
Figura 7	Esquema del dispositivo construido para la captura de fotografías de las hojas de <i>E. pycnophylla</i> y <i>E. schultesiana</i>	43
Figura 8	Relación entre el número de armónicas utilizadas para reconstruir las formas foliares, su eficacia en la discriminación interpoblacional y el porcentaje de hojas correctamente clasificadas a las poblaciones establecidas <i>a priori</i>	50
Figura 9	Reconstrucción de las formas foliares promedio para cada población	51
Figura 10	Diagramas de dispersión del análisis discriminante o <i>espacio de forma</i>	55
Figura 11	Relación entre distancia biogeográfica (β_{IJ}) y divergencia morfológica foliar	56
Figura 12	Arboles de mínima Expansión (AME)	58
Figura 13	Dendrograma biogeográfico y morfológico	60
Figura 14	Relación entre el tamaño del área poblacional y la variación morfológica intrapoblacional	62
Figura 15	Algunos ejemplos de formas foliares atípicas encontradas únicamente en las poblaciones de alta heterogeneidad morfológica PCC y PAG.	63
Figura 16	Dendrograma interpoblacional generado con la variable área foliar como estimativo de <i>tamaño</i>	64
Figura 17	Posición altitudinal histórica y actual de las áreas de Páramo en los Andes Colombianos durante el Tardiglacial del Holoceno	87
Figura 18	Reconstrucción paleogeográfica y estimación actual de la distribución de <i>E. pycnophylla</i> en los Páramos de Nariño	90
Figura 19	Cladograma de áreas histórico	92

LISTA DE TABLAS

	Pág
Tabla 1 Poblaciones de estudio y algunas de sus características más relevantes.	37
Tabla 2 Matriz de distancias biogeográficas (β_{ij}) en Km entre las ocho poblaciones de estudio	38
Tabla 3 Resumen de algunas características de clima y geomorfología más relevantes de cada población	40
Tabla 4 Matriz de distancias morfométricas entre los centroides morfométricos de las ocho poblaciones	46
Tabla 5 Estadígrafos y probabilidades de discriminación interpoblacional según el análisis discriminante realizado con base en los CEF foliares de las ocho poblaciones de estudio	52
Tabla 6 Significancia estadística de las diferencias entre cada par de poblaciones	53
Tabla 7 Tabla de contingencia de las conexiones interpoblacionales presentes para los AME morfométrico y biogeográfico	59
Tabla 8 Valores descendentes de varianza y tamaño del área de distribución poblacional para cada población estudiada	61
Tabla 9 Promedios y varianzas de área foliar para cada población en orden descendiente	63

RESUMEN

En esta investigación se hipotetizó que seis poblaciones de *Espeletia pycnophylla* presentan un patrón de divergencia morfométrica interpoblacional correlacionado con su aislamiento geográfico y que poblaciones grandes poseen mayor variación morfométrica intrapoblacional que poblaciones relativamente reducidas. La metodología seleccionada fue el Análisis Elíptico de Fourier de la forma foliar *per se*¹, que ha probado ser un indicador efectivo y sensible de variación intra e interpoblacional en varias especies vegetales. Todas las poblaciones mostraron diferencias significativas y existieron además, correlaciones fuertes y positivas entre las matrices de distancias morfométricas, geográficas y de áreas de distribución, evidenciando un claro proceso de divergencia marcado por dos particularidades 1) A mayor distancia geográfica, mayor divergencia morfométrica interpoblacional y 2) A mayor área de distribución de cada población, mayor variación morfométrica intrapoblacional. Además, con la finalidad de generar un soporte adicional para explicar los resultados obtenidos en cuanto a la relación entre variación morfométrica, distancia geográfica y área de distribución, se aplicó el modelo paleogeográfico de van der Hammen (1974) a las áreas de distribución de las poblaciones estudiadas, el cual, con base en registros de polen fósil, describe las modificaciones históricas de los límites altitudinales y de contracción y fragmentación geográfica del Páramo *sensu stricto* en los Andes Colombianos durante los últimos 25.000 años. Esta aproximación mostró estar correlacionada de forma significativa con la variación interpoblacional, indicando posiblemente que poblaciones estrechamente relacionadas a nivel morfométrico estuvieron conectadas en un pasado más inmediato que poblaciones disímiles.

En general, estos hallazgos sugieren un escenario de continuos eventos de vicarianza y reducción de áreas de distribución, donde la selección y la deriva genética condicionadas a un posible flujo génico restringido, pueden haber sido fuerzas de cambio importantes. Sin embargo aun se necesitan datos moleculares para confirmar si este patrón posee bases genéticas. Los resultados también permitieron identificar poblaciones amenazadas a sufrir extinciones locales debido a baja variabilidad interna y/o reducida área de distribución, insumo importante hacia una diagnosis y priorización de áreas de conservación en los Páramos de Nariño.

¹ La forma *per se* de una estructura biológica es aquella información geométrica resultante de aislar o estandarizar sus componentes de tamaño, y que en el caso foliar en plantas, ha probado ser un estimador poderoso de variación genética entre y dentro de poblaciones naturales cuando es analizada usando el Análisis Elíptico de Fourier.

Key words: *Espeletia pycnophylla*, divergencia poblacional, Análisis elíptico de Fourier, forma foliar *per se*, vicarianza.

ABSTRACT

In this research we boarded two hypotheses: 1) Six populations of *Espeletia pycnophylla* characterized by their conspicuous geographic isolation show a pattern of inter population morphometric divergence correlated with their spatial distances and 2) Populations with greater geographic ranges show higher levels of intra population morphometric variation than reduced ones. The selected methodology was the Elliptic Fourier Analysis of the leaf shape *per se*² which has proven to be an effective and sensible estimator of between and within population variation in several plant species. All populations showed significant differences and there were strong and positive correlations among the matrices of morphometric, geographic and distribution areas distances. These results evidenced a clear divergence process defined by two particularities: 1) Greater geographic distances imply higher levels of morphometric divergence among populations and 2) Greater distribution areas promote higher levels of within population variation. Furthermore, we applied the van der Hammen (1974) paleogeographic model to the distribution areas of the studied populations, with the aim of generating an additional support to explain the obtained results about the relationship among the morphometric variation, geographic distance and distribution area of populations. Based on records of fossil pollen grains, this model explains the modifications of altitudinal shifts, contraction and fragmentation of the Paramo *sensu stricto* in the Colombian Andes. This approach showed to be significantly correlated with the between population variation, indicating that similar populations were connected in a more immediate past than dissimilar ones.

Generally, these results suggest with a scenario of continuous vicariance events and reduction of geographic ranges, where selection and genetic derive, both conditioned by a possible restricted gene flow, could have been important forces of change. However we still need data from molecular markers, to prove if the obtained patter has a genetic base. Our results also allowed us to identify endangered populations to suffer local extinctions due to low within population variation and/or reduced geographic range. This is a contribution toward a diagnosis and prioritization of conservation areas in the Paramos of Nariño.

Palabras clave: *Espeletia pycnophylla*, population divergence, Elliptic Fourier Analysis, leaf shape *per se*, vicariance

² The shape *per se* of a biologic structure is the geometric information that results from isolating or standardizing its size components. In plant leaves it has shown to be a powerful estimator of genetic variation between and within plant populations, when analyzed under the Elliptic Fourier Analysis.

INTRODUCCIÓN

La estructuración fenotípica dentro y entre poblaciones vegetales está generalmente influenciada por sus patrones de distribución en el espacio, el tiempo y por las condiciones ambientales de sus hábitats de distribución. Por lo tanto, el estudio de su divergencia interpoblacional y su variabilidad intrapoblacional ha sido un asunto central para poder entender los procesos microevolutivos que operan para determinar dicha estructura y estimar sus posibles respuestas frente a futuras modificaciones naturales o antropogénicas del clima local y global. Además, el entendimiento de estos aspectos es un tema crucial para diagnosticar el estado de poblaciones vegetales geográficamente aisladas y delinear estrategias adecuadas para su conservación (Loveless & Hamrick 1984).

Dentro de esta situación encaja el caso particular de *Espeletia pycnophylla*, una especie de Frailejón endémica del departamento de Nariño y el norte del Ecuador y que según Cuatrecasas (1986), corresponde al último evento de especiación del complejo *Espeletia*, un grupo de plantas que se originó en los Andes venezolanos durante el Plioceno tardío y que ha sufrido altas tasas de diversificación en los Páramos tropicales, dejando a su paso una de las radiaciones adaptativas más interesantes y clásicas en evolución vegetal (Monasterio & Sarmiento 1991). Sin embargo, uno de los aspectos más resaltantes de esta especie es su distribución geográfica altamente fragmentada, que resulta en la presencia de varias poblaciones sometidas a un conspicuo aislamiento geográfico en diferentes complejos paramunos con características ecológicas disímiles, y con áreas de distribución extremadamente contrastantes en tamaño (poblaciones grandes que alcanzan los 600 km² y poblaciones pequeñas reducidas a 5 km²) (Cuatrecasas 1986; Solarte *et al* 2007).

Este patrón de aislamiento geográfico es muy característico de especies de páramo, ya que estos ecosistemas poseen un marcado estatus de islas biogeográficas (Carlquist 1974), como uno de los resultados de la compleja evolución geológica y climática de los Andes (van der Hammen & Cleff 1986). Sin embargo, los páramos no han estado siempre sujetos a esta condición de aislamiento, sino que han sobrellevado cambios periódicos de contracción y expansión geográfica durante los ciclos glaciales e interglaciales del Pleistoceno y Holoceno, debido a su alta sensibilidad a las fluctuaciones climáticas (van der Hammen 1974). La suma de estas condiciones ha sido un factor concomitantemente que han influido sobre la diversificación de *Espeletia* (Rauscher 2000).

En este contexto, la distribución geográfica agudamente disyunta de *E. pycnophylla* en los Páramos de Nariño es una posible consecuencia de la fragmentación espacial de estos ecosistemas durante los últimos 14.000 años, época en la que finalizó la última glaciación y

el aumento de la temperatura global promedio marcó el inicio del actual Holoceno. Este tipo de fenómenos inducen cierta divergencia fenotípica y genotípica entre poblaciones vegetales que permanecen aisladas espacial y reproductivamente, y son el resultado de tres posibles causas o la combinación de ellas: 1) un flujo genético restringido; 2) presiones de selección contrastantes a causa de la heterogeneidad ambiental y 3) deriva genética. Según Loveless & Hamrick (1984), estas son las condiciones *sine qua non* en la diversificación microevolutiva de las plantas y la consiguiente aparición de variedades y subespecies.

Para medir este tipo de divergencia se han propuesto aproximaciones como la morfología tradicional, la citotaxonomía y los marcadores moleculares, pero otro tipo de técnicas morfométricas relativamente nuevas como el Análisis Elíptico de Fourier de la forma foliar, ha probado ser una alternativa fenotípica muy efectiva para estimar la variabilidad existente entre y dentro de las poblaciones vegetales, permitiendo muchas aplicaciones en el estudio de la evolución poblacional (Lönn & Prentice 1995, Olsson *et al.* 2000, White *et al.* 1998). Esta técnica recoge la variación en la forma *per se* de las estructuras biológicas, eliminando los efectos del tamaño y extrayendo una gran cantidad de variación heredable (Molau & Prentice 1992, Jensen *et al.* 2002, Rumpunen & Bartish 2002).

En esta investigación se abordó el problema del aislamiento geográfico y la divergencia poblacional en *E. pycnophylla*, utilizando la aproximación morfométrica del Análisis Elíptico de Fourier de la forma foliar. Para esta finalidad se escogieron seis poblaciones de esta especie en el departamento de Nariño con base en el criterio de su pronunciado aislamiento geográfico y en su clara delimitación cartográfica. De cada población se seleccionó una muestra aleatoria de 90 hojas maduras para analizar la variación inter e intrapoblacional de su forma *per se*, las relaciones de similitud y disimilitud y sus correlaciones con variables como la distancia geográfica, el tamaño de sus áreas de distribución y la evolución histórica de las mismas como posibles factores explicativos de dicha divergencia. Por lo tanto, el desarrollo de la presente investigación giro alrededor de responder las siguientes preguntas:

1. ¿Cómo varía la morfometría del contorno foliar entre seis poblaciones de *Espeletia pycnophylla* aisladas biogeográficamente en diferentes páramos de Nariño?
2. ¿Cómo se relacionan la distancia espacial entre las poblaciones de *E. pycnophylla* y las divergencias morfométricas interpoblacionales que se puedan manifestar?
3. ¿Cómo se relacionan los tamaños del área de distribución de cada población con su diversidad morfométrica intrapoblacional?

La importancia de responder a estas preguntas radica en que el conocimiento de cómo la variabilidad fenotípica está distribuida entre y dentro de poblaciones vegetales desde una perspectiva espaciotemporal aporta bases y pautas para su conservación (Chambers y Bayless 1983, Wolf y Campbell 1995), ya que permite aproximarse a un entendimiento de los procesos de adaptación, divergencia y especiación, además de permitir la identificación de aquellas poblaciones más vulnerables, con propósitos de priorización de planes y estrategias de preservación ecológica (Loveless & Hamrick 1984).

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actual divergencia interpoblacional de *E. pycnophylla* entre seis páramos del departamento de Nariño mediante un análisis de variación morfogeométrica de la forma foliar.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar si existen diferencias consistentes en la forma foliar entre seis poblaciones de *E. pycnophylla* aisladas biogeográficamente en diferentes complejos paramunos de Nariño

Inquirir la relación entre distancia espacial y divergencia morfogeométrica entre las seis poblaciones de *E. pycnophylla*

Identificar la relación entre variación morfogeométrica intrapoblacional y tamaño poblacional para cada una de las poblaciones de *E. pycnophylla*

2. ANTECEDENTES

Cuatrecasas (1986) fue el primero en aproximarse al problema de la diferenciación subespecífica de *E. pycnophylla* por aislamiento geográfico, e identificó tres categorías 1) *E. pycnophylla* spp *pycnophylla*, 2) *E. pycnophylla* var *galerana*; 3) *E. pycnophylla* spp *angelensis*; 4) *Espeletia pycnophylla* var *lanuginosa* y 5) *E. pycnophylla* spp *Llanganatensis*.

Benavides *et al* (2010), utilizaron la técnica morfométrica de las transformaciones elípticas de Fourier sobre las formas foliares y polínicas de *E. pycnophylla*, encontrando que tres poblaciones geográficamente aisladas, pertenecientes al páramo El Infiernillo, el Páramo del Volcán Galeras y el Páramo de Cerro Negro en el departamento de Nariño, presentan una acentuada diferenciación, la cual está además, correlacionada con la distancia espacial y con la historia de reducción y fragmentación de las áreas de distribución poblacionales durante los últimos 14.000 años. En otras palabras, la distancia y las barreras geográficas existentes entre un par de poblaciones acentúan su divergencia. Los autores explican este patrón argumentando que las fuertes barreras geográficas que existen entre las zonas de estudio imposibilitan su intercambio polínico, impidiendo un flujo de genes continuo entre poblaciones. Con esta aproximación se propuso como las barreras geomorfológicas a pequeña escala, influyen la divergencia alopatrica incipiente de caracteres en esta especie.

Los estudios citados a continuación, realizados en algunas especies de plantas, han usado los descriptores de Fourier sobre la forma de las hojas, como un proxy para resolver problemas biogeográficos, de genética de poblaciones, taxonómicos y filogenéticos, los cuales han mostrado resultados interesantes y patrones elocuentes. Muchas investigaciones de este tipo han reportado además concordancias significativas entre los patrones obtenidos con este tipo de datos, y los patrones obtenidos con datos moleculares y aloenzimáticos, aportando así, evidencias importantes acerca de que la forma foliar analizada con este tipo de técnicas, tiene bases genéticas de variación individual, interpoblacional e interespecífica (Ouborg *et al* 1991; Schaal *et al* 1991; Lönn & Prentice 1995; McLellan & Endler 1998; White *et al* 1998; Jensen *et al* 2002; Olsson *et al* 2002; Rumpunen & Bartish 2002).

Lönn & Prentice (1995) investigaron la variación de la forma foliar entre tres complejos poblacionales geográficamente aislados de *Hippocrepis emerus* (Fabaceae) en Escandinavia utilizando la técnica de las transformaciones elípticas de Fourier. Sus resultados mostraron diferencias pronunciadas entre complejos de poblaciones y entre poblaciones dentro de complejos, variación que estuvo correlacionada con las distancias geográficas entre las

poblaciones. Además, los autores compararon los resultados morfométricos con un análisis de variación interpoblacional basado en 12 sistemas enzimáticos, encontrando una concordancia significativa entre ambas técnicas, lo que les permitió concluir que la variación mostrada por la forma de la hoja, tanto a nivel individual, como entre poblaciones dentro de complejos, y entre complejos de poblaciones posee bases genéticas. En cuanto a explicaciones biogeográficas, los autores proponen que la divergencia encontrada se explica por deriva genética, como resultado de las fluctuaciones históricas en disponibilidad de hábitat y tamaño poblacional, principalmente durante los episodios de contracción y expansión de su ámbito geográfico asociados con la transición entre periodos glaciales e interglaciales.

McLellan & Endler (1998) realizaron un estudio comparativo entre diez especies de *Acer*, dos de *Quercus* y una de *Liquidambar*, utilizando los coeficientes elípticos de Fourier, 20 mediciones lineales tradicionales y cuatro descriptores de parámetro simple (dimensión fractal, rugosidad del margen, índice de disección y relación perímetro/longitud) sobre las láminas foliares, con el objetivo de probar qué técnica permite una mejor discriminación entre especies y entre poblaciones dentro de una especie de *Quercus*. Cada grupo de datos obtenido con las seis técnicas fue sometido a un análisis discriminante, mostrando que todos permiten el reconocimiento de las especies. Sin embargo, los coeficientes elípticos de Fourier otorgaron una mejor resolución de separación entre especies y poblaciones. Cuando estos coeficientes fueron transformados a sus series de poder, la discriminación fue aun más efectiva. Sin embargo, esta transformación pierde información sobre la forma, no permite su reconstrucción, y debería ser utilizada solamente cuando la estructura a describir es lo suficientemente compleja, como en las hojas multilobuladas de *Acer*.

Olsson *et al* (2000) recurrieron al análisis elíptico de Fourier del contorno foliar, y a marcadores moleculares RAPD's (random amplified polymorphisms) para evaluar la variación entre especies y subespecies de la sección *Caninae* del género *Rosa* en Escandinavia. Los autores detectaron un patrón sutil pero significativo de diferenciación entre y dentro de los grupos estudiados, lo cual fue concordante con el tratamiento taxonómico del género. Las dos técnicas utilizadas produjeron en general el mismo patrón de agrupamientos entre especies y subespecies, pero los coeficientes elípticos de Fourier aportaron una mayor resolución de discriminación entre grupos. Este trabajo permitió concluir que la forma de la hoja en la sección *Caninae* del género *Rosa*, es un proxy efectivo para evaluar la diferenciación inter-taxón e intra-taxón.

Jensen *et al* (2002) utilizaron los coeficientes elípticos de Fourier, mediciones lineales tradicionales, el índice de disección foliar y diez landmarks homologos mediante análisis de relative warps, sobre las hojas de *Acer rubrum*, *Acer saccharinum* y su híbrido *Acer*

xfreemanii, para analizar la variación entre especies, y la relación del híbrido respecto a las mismas. A pesar de ciertas diferencias pormenorizadas, las cuatro técnicas permitieron discriminar de forma general las dos especies, y mostraron a *A. xfreemanii* como un grupo intermedio. Los autores propusieron que la forma de las hojas de *Acer* analizada con estas técnicas, es un indicador de la segregación genética que ocurre en los híbridos, e incluso permite identificar mutaciones somáticas dentro de cada individuo.

Rumpunen & Bartish (2002), evaluaron la variación entre ocho poblaciones de cuatro especies geográficamente aisladas del género *Chaenomeles* (Rosaceae) provenientes de China y Japón (dos poblaciones de *C. japonica*, tres poblaciones de *C. speciosa*, dos poblaciones de *C. cathayensis* y una población de *C. thibetica*), utilizando mediciones foliares lineales, coeficientes elípticos de Fourier sobre la forma de los contornos foliares, y marcadores moleculares RAPD's. Todos los individuos fueron obtenidos desde semillas y cultivados en un invernadero bajo condiciones ambientales similares. Los cuatro métodos generaron diferenciación entre especies y poblaciones, aunque la morfometría lineal fue la aproximación menos efectiva en cuanto a su poder de discriminación. Las matrices de disimilitud entre especies y poblaciones a partir de los coeficientes elípticos de Fourier y los RAPD's estuvieron significativamente correlacionadas, lo que indicó que la forma foliar *per se*³, excluida de sus componentes de tamaño, es un indicador consistente de la variación genética dentro y entre poblaciones y especies en el género *Chaenomeles*. *C. cathayensis* presentó una diferenciación interpoblacional aproximadamente cinco veces mayor que en el resto de especies, lo que implica diferencias en su sistema de entrecruzamiento. Esto es un posible reflejo su historia natural, sometida a un mayor aislamiento geográfico entre sus poblaciones y a tamaños poblacionales reducidos que provocan la aparición de endogamia.

La forma *per se*, se extrae cuando una estructura anatómica es aislada de sus componentes de tamaño (longitud, grosor, anchura, área, perímetro etc.) y por lo tanto la configuración espacial de esta estructura o su "forma", es analizada independientemente de sus efectos alométricos.

3. MARCO TEORICO

3.1 ALGUNAS CARACTERÍSTICAS RELEVANTES DE LOS ECOSISTEMAS DE PÁRAMO

Cuatrecasas (1958) definió el páramo como extensas regiones desarboladas que coronan las cordilleras por encima del bosque andino. Son fríos y húmedos con cambios climáticos bruscos y están casi cubiertos por niebla y en ellos los pastos son abundantes. Vergara & Velasco citados por Rangel (1987) lo definieron como regiones solitarias y melancólicas, comprendidas entre 3000 y 4000 msnm. Especies de *Drymis*, *Weinmannia*, *Berberis* y otros arbustos viven hasta 3600 m. A partir de allí predominan las gramíneas y *Espeletia*. Guhl (1995) lo describió como regiones montañosas de los andes ecuatoriales húmedos por encima del límite superior del bosque, mayores de 3100 m; la forma del relieve incluye hasta el modelado periglacial. En el páramo alto por encima de 3500 m son comunes las morrenas y los procesos de soliflucción y geliflucción (Rangel 1987)

Rangel (1987) define el páramo andino como una región de clima tropical frío que se extiende hasta el límite de las nieves, y ha dado origen a una variedad de organismos con adaptaciones para tolerar las condiciones climáticas extremas y las marcadas diferencias diurnas y nocturnas. El páramo es un ecosistema de pajonales, principalmente abierto, localizado en la franja comprendida entre el bosque montano y el límite superior de la nieve perpetua. Este ecosistema esta distribuido dentro de la zona húmeda de los andes ecuatoriales entre 11° N y 8 ° S de latitud, principalmente en Venezuela, Colombia, Ecuador, el Norte de Perú y algunas localidades de Costa Rica y Panamá (Sklenář, 2005). El páramo es uno de los ecosistemas de alta montaña más rico del mundo con una gran biodiversidad y endemismo, pero desde el punto de vista ecológico, es un ambiente frágil.

El panorama del páramo ha sido influenciado por la glaciación, es irregular, accidentado y muy arriscado, a menudo con lagos remanentes del periodo glacial. En Colombia, fuente de los grandes ríos como el Magdalena y el Cauca, estos ecosistemas se ven también influenciados por la convergencia intertropical de masas de aire, debido a su localización geográfica cercana al ecuador. Son generalmente húmedos durante casi todo el año, con nieblas continuas debidas a la altura orográfica de los Andes (Luteyn 1992)

Los páramos han sido clasificados según franjas altitudinales o subzonas; Cuatrecasas (1958) definió que existen tres grandes zonas en la vegetación del páramo en los Andes Colombianos, las cuales pueden ser distinguidas por su fisionomía y su florística, estas zonas son: el Subpáramo, que incluye en monte achaparrado, justo por encima de la línea

del bosque; el Páramo propiamente dicho o Pajonal, y el Superpáramo, justo por debajo de la franja de esta forma. Cleff (1980) subdividió cada una de las zonas en subzonas altas y bajas en el oeste de la cordillera Colombiana. Esta clasificación es válida solo para la región mencionada.

Rangel (2000) clasificó la región paramuna en cuatro franjas o subzonas, que son: Altoandina-subpáramo o zona de ecotonía: entre 3000-3200 m; Subpáramo (páramo bajo): entre 3201-3500 (3600); Páramo propiamente dicho: entre 3501 (3601) 4100 m y el Superpáramo: franja situada por encima de 4100 m, llega hasta el límite inferior de las nieves perpetuas. El clima de la alta montaña en los páramos generalmente está modificado por las condiciones topográficas especialmente en las vertientes, en donde se origina una gama amplia de macro y microclimas tienen generalmente un clima frío y húmedo, con bruscas fluctuaciones de temperatura diarias, con cambios que pueden ir por debajo del punto de congelamiento hasta 30 ° C, en un ciclo que ha sido definido como “un verano cada día y un invierno cada noche” (Hedberg 1964).

La geología de los andes es extremadamente variable, y consecuentemente también lo son los suelos. Muchos suelos de los páramos son relativamente jóvenes, y ligeramente desarrollados (Luteyn 1992) . Los suelos de la región paramuna según Sturm (1998); citado por Rangel 2000) tienen la siguiente distribución: Inceptisoles, suelos jóvenes, pobremente desarrollados, el 14 % incluyen plaquaquepts, cryumbrepts y creyaquepts; , los Andosoles, suelos con cenizas volcánicas y un horizonte negro Ah, representan el 1 % y los Histosoles o suelos de los pantanos, con capa gruesa de humus, representan el 1%. En el páramo medio y alto, sin efecto periglacial predominan los Entisoles (horizontes delgados), Inceptisoles (horizontes espesos) y Andisoles (Rangel 2000)

Aunque Luteyn (1992) menciona que la clasificación de las zonas de distribución de la flora en los páramos es difícil y se presta para muchas confusiones, Rangel (2000) plantea que existen registros de 112 tipos de vegetación, dentro de los cuales los más importantes son los matorrales dominantes, los frailejonales, la vegetación acuática y los bosques. En toda la extensión de los páramos en Suramérica, existen alrededor de 4697 especies de las cuales 3054 están presentes en los páramos de Colombia, representando el 65% de total.

3.2 LOS PÁRAMOS EN NARIÑO Y SU CLASIFICACIÓN

Según Luteyn (1992), en Nariño existen alrededor de 72 zonas de páramo, la mayoría de los cuales se concentran hacia la zona del nudo de los Pastos la cual presenta una alta influencia volcánica. El factor geomorfológico de la actividad volcánica en el departamento de Nariño, es el más importante. Las depresiones interandinas se rellenaron con material

volcánico proveniente de erupciones antiguas de los volcanes Galeras, Cumbal, Azufral y Chiles. Muchos de los páramos de Nariño han sido catalogados como zonas protegidas debido al legado cultural y biológico que encierran, la diversidad elevada en las comunidades vegetales, la ubicación como zonas que representan límites biogeográficos importantes y el papel decisivo de las zonas altas en el mantenimiento de condiciones ecológicas aceptables, y la economía de las poblaciones humanas de las zonas bajas, (Rangel, 1987).

Solarte *et al* (2007), hicieron dos clasificaciones de los páramos de Nariño. La primera es una clasificación general, y está basada en criterios únicamente biogeográficos, como la distribución espacial de las áreas de páramo según las divisorias de agua más importantes del departamento, características ecológicas, conexiones y aislamientos entre los mismos. La segunda clasificación es más particular que la primera, y está consolidada sobre criterios biogeográficos, criterios político-administrativos y criterios de intervención humana y dinámicas poblacionales. A continuación se muestran ambas clasificaciones, sus componentes, y las características más destacables de cada uno.

3.3 CLASIFICACIÓN DE LOS PÁRAMOS DE NARIÑO SEGÚN CRITERIOS ÚNICAMENTE BIOGEOGRÁFICOS

3.3.1 Complejo 1. Páramos de la cima de la cordillera Occidental: Localizados hacia el occidente de los Andes, se distribuyen desde la frontera con el Ecuador hasta la parte alta de la cuenca del río Pacual (Túquerres). Se extienden entre los edificios volcánicos Chiles, Cerro Negro de Mayasquer, Cumbal, Azufral y Cerro Gualcalá. Estas áreas se encuentran influenciadas por masas de aire húmedo provenientes de la llanura del Pacífico, especialmente hacia la vertiente occidental de la cordillera (Solarte *et al* 2007).

3.3.2 Complejo 2. Páramos de la cima de la cordillera Centro-Oriental: Localizados hacia el oriente de los andes, se distribuyen desde la frontera con el Ecuador hasta los límites con el departamento del Cauca. Se localizan de sur a norte en los cerros Palacios, Sucumbíos, Ovejas, Alcalde, volcanes Patascoy, Bordoncillo, cerros de Juanoy, Machete de Doña Juana y volcanes Doña Juana, Animas y Petacas. Estas áreas se encuentran influenciadas por las masas de aire húmedo provenientes de la Amazonía, especialmente hacia la vertiente oriental de la cordillera. Dentro de este complejo se ubican además los páramos azonales alrededor de la laguna de la Cocha, peculiares por su localización altitudinal por debajo del límite paramuno general (Solarte *et al* 2007).

3.3.3 Complejo 3. Páramos intra-Andinos: Localizados en la parte central del nudo de los pastos, donde la humedad y la lluvia son más bajas que en las áreas Occidental y Centro-

Oriental. Entre estos páramos se encuentran los cerros de Paja Blanca, Morasurco y el volcán Galeras (Solarte *et al* 2007).

3.3.4 Páramos azonales: Se localizan hacia el sur de la Laguna de la Cocha en los fondos planos de los valles de los ríos Estero y Guamués. Estos páramos se encuentran a una altura promedio de 2700 m, y están influenciados por las masas de aire húmedo provenientes de la amazonia (Solarte *et al* 2007).

3.4 CLASIFICACIÓN DE LOS PÁRAMOS DE NARIÑO SEGÚN CRITERIOS BIOGEOGRÁFICOS, POLÍTICO-ADMINISTRATIVOS, DE INTERVENCIÓN HUMANA Y DINÁMICAS POBLACIONALES.

3.4.1 Zona de páramos del norte del departamento de Nariño. Hacia el norte del departamento existen dos áreas cordilleranas claramente identificables: la cordillera centro – oriental que marca la divisoria de aguas entre la vertiente pacífica y la amazónica, y la occidental que separa al valle seco del Patía de la húmeda vertiente pacífica. En este caso, al referirse a los páramos del norte, se está haciendo alusión a los existentes en la cordillera centro – oriental, puesto que la occidental (por su altura y características geomorfológicas y climáticas) no posee áreas de páramo. Esta zona incluye los páramos que hacen parte del complejo volcánico Doña Juana y del corredor que se prolonga a través del páramo Machete de Doña Juana hasta el cerro Juanoy, y se distribuyen latitudinalmente entre 1° 40' norte hasta 1° 17' norte, correspondiendo así al sector paramuno más septentrional del departamento (Solarte *et al* 2007).

De manera global puede afirmarse que esta zona se encuentra constituida por un solo corredor de páramos que de forma ininterrumpida se prolonga a lo largo de la divisoria de aguas de la cordillera centro-oriental. Sin embargo, existen cuatro áreas representativas interconectadas a través estrechos corredores de páramo propiamente dicho o de subpáramo en algunos casos. Estas áreas o núcleos son los correspondientes a Ánimas – Petacas, volcán Doña Juana, cerro Machete de Doña Juana y cerro Juanoy. Las tres últimas áreas se encuentran comunicadas a través de un corredor de páramos y subpáramos cuyo ancho promedio varía entre uno y tres kilómetros, mientras que el corredor que comunica a Ánimas – Petacas con el volcán Doña Juana, está predominantemente caracterizado por vegetación propia de subpáramo que se prolonga desde el cerro Tajumbina hacia el volcán Doña Juana con un ancho promedio inferior a un kilómetro. Esta zona hace parte de un complejo de páramos que cubre tres departamentos: Nariño, Cauca y Putumayo. La mayor superficie de este complejo se distribuye hacia el departamento del Cauca (municipios de Santa Rosa y Bolívar), seguido por Nariño, y en menor proporción el departamento de Putumayo hacia el sur. A Nariño le corresponde el área de páramos que se extiende desde

la divisoria de aguas hacia el occidente, incluyendo las cuencas altas de los ríos Mayo y Juanambú. A nivel municipal, en esta zona se encuentran los municipios de San Pablo, La Cruz, San Bernardo y el Tablón de Gómez (Solarte *et al* 2007).

3.4.2 Zona de páramos del centro del departamento de Nariño. En la parte central de los Andes nariñenses, conocida como el nudo de los Pastos, existen varios páramos que hacen parte de tres subgrupos: páramos de la cima de la cordillera centro – oriental, páramos intra-andinos y páramos azonales. En consecuencia, esta zona incluye los páramos de: volcán Galeras, cerro de Morasurco, Bordoncillo – Piscicultura, El Tábano, cerro de Patascoy, cerro Alcalde y páramos azonales de La Cocha. Los páramos de Galeras y Morasurco constituyen ecosistemas aislados (intra-andinos) mientras que los restantes están bajo la influencia de condiciones ecológicas y climáticas de tipo amazónico. Corredores de páramos propiamente dichos, no existen en esta zona, sin embargo, algunos de éstos se encuentran interconectados por coberturas selváticas altoandinas tales como Patascoy - Alcalde, y en menor proporción Patascoy - Bordoncillo, y El Tábano – Bordoncillo. Latitudinalmente esta zona se distribuye entre 0° 47' norte hasta 1° 17' norte, extendiéndose, como se dijo anteriormente, sobre tres conjuntos fisiográficos diferenciables: la divisoria de aguas de la cordillera centro – oriental (Bordoncillo - Piscicultura y El Tábano), la cuenca alta del río Guamués (Bordoncillo - Piscicultura, El Tábano, Patascoy, Alcalde y Azonales de La Cocha) y la zona intra-andina del departamento (Galeras y Morasurco) (Solarte *et al* 2007).

Particularmente, en esta zona, los niveles de intervención humana sobre las áreas de páramo son bastante altos especialmente en Galeras, Morasurco, Bordoncillo - Piscicultura y azonales de La Cocha. Dicha intervención disminuye significativamente en los páramos de Patascoy y Alcalde, debido a la condición de aislamiento poblacional de estas áreas. Esta zona hace parte de un complejo de páramos que cubre dos departamentos: Nariño y Putumayo, con el cual se comparte un sector de los páramos de Bordoncillo – Piscicultura y Patascoy. Estos páramos constituyen la parte alta de las cuencas de los ríos Pasto, Río Bobo, Buesaquito, Guamués y varios ríos tributarios del Putumayo. A nivel municipal, en esta zona se encuentran los municipios de Pasto, Buesaco, Tangua, Yacuanquer, Consacá, Sandoná, La Florida y Nariño. Pasto es el único municipio sobre cuyo territorio se encuentra parte o la totalidad de la superficie correspondiente a los páramos anteriormente nombrados, hecho que ha reforzado y justificado la identificación de esta zona de páramos centrales (Solarte *et al* 2007).

3.4.3 Zona de páramos del suroriente del departamento de Nariño. De manera similar a la situación topográfica que se presenta en el norte del departamento, hacia el sur de Nariño existen dos áreas cordilleranas claramente identificables: la cordillera centro – oriental que

marca la divisoria de aguas entre la vertiente pacífica y la amazónica, y la occidental que separa al valle seco del Guáitara de la húmeda vertiente pacífica. Teniendo en cuenta que en los dos ramales, existen ecosistemas paramunos, se ha decidido establecer dos zonas de páramos de acuerdo con su posición geográfica. Esta zona incluye los páramos que hacen parte de un corredor que se prolonga desde la margen izquierda del río Bobo (municipio de Tangua) a través de la divisoria de aguas de la cordillera hasta el cerro de Palacios en el municipio de Ipiales, distribuyéndose latitudinalmente entre 0° 32' norte y 1° 05' norte. De manera general puede afirmarse que esta zona se encuentra constituida por un solo corredor de páramos que de forma ininterrumpida se prolonga a lo largo de la divisoria de aguas de la cordillera centro-oriental y que constituye el área de páramos más extensa de todo el departamento. Sin embargo, es posible identificar algunas áreas claves dentro de este corredor: Al norte existen dos ramales uno que se prolonga por la cuenca alta del río Bobo en un sector conocido como el páramo del Tauso; y el otro ramal se direcciona hacia el noreste por la divisoria de aguas con la laguna de La Cocha en un sector conocido como Ovejas. Hacia el sur, en el municipio de Funes, los dos ramales septentrionales se unen y se prolongan hacia el sur como un solo corredor de páramos desde un sector denominado Sucumbíos (cerro Chimbo) hasta la parte alta del río Tescual cerca de Potosí. Desde aquí hacia el sur, el área paramuna se divide nuevamente en dos ramales que para este estudio se han identificado como cerro Palacios oriental y cerros Palacios occidental, los cuales se localizan en el municipio de Ipiales. Este corredor comprende la parte alta de los siguientes municipios: Tangua, Funes, Puerres, Córdoba, Potosí e Ipiales. Aquí nacen varios ríos tributarios del Guáitara hacia el occidente y del Guamués hacia el oriente (Solarte *et al* 2007).

3.4.4 Zona de páramos del suroccidente del departamento de Nariño. Por el otro lado de la cordillera, hacia el occidente del cañón del río Guáitara se encuentra esta zona de páramos que se extiende en general por la cima de la cordillera occidental desde la parte alta de la cuenca del río Pacual hasta la frontera con la república del Ecuador. Esta zona incluye los páramos de Azufral – Gualcalá, Quitasol, Paja Blanca, Cumbal – Chiles – Cerro Negro de Mayasquer y se distribuye latitudinalmente entre 0° 44' norte hasta 1° 14' norte. En esta zona se encuentran páramos correspondientes a dos subgrupos: los páramos intra-andinos (Quitasol y Paja Blanca) y los páramos de la cima de la cordillera Occidental (Azufral – Gualcalá y Cumbal – Chiles – Cerro Negro de Mayasquer). De manera global puede afirmarse que esta zona se encuentra constituida por algunos páramos aislados (Paja Blanca y Quitasol), un complejo de páramos hacia el norte (Azufral – Gualcalá) y un gran corredor de páramos que de manera ininterrumpida se prolonga a lo largo de la divisoria de aguas de la cordillera occidental desde las estribaciones del nevado del Cumbal hacia el norte hasta los volcanes de Chiles y Cerro Negro de Mayasquer, en el sur. Este corredor de páramos se prolonga hacia el Ecuador donde se observa un área de extensión muy semejante a la

presente en el territorio nacional. Considerando la altura de los volcanes Cumbal y Chiles, en la parte alta el superpáramo está limitado por un nivel altitudinal de naturaleza glaciar, mientras que en las partes bajas que se encuentran entre estas dos estructuras volcánicas, la vegetación de páramo se extiende ininterrumpidamente a través de edificios volcánicos antiguos. Hacia el norte no existe continuidad en la vegetación propia de páramo o subpáramo con el complejo de Azufral – Gualcalá, sin embargo estas dos áreas se encuentran muy cercanas y seguramente existen relaciones ecológicas entre uno y otro. El área de páramos suroccidentales corresponde a la cuenca alta de varios tributarios del río Guáitara hacia el oriente y de otros ríos que descienden por la cordillera hacia el océano Pacífico por el occidente. A nivel municipal, en esta zona se encuentran los municipios de Mallama, Túquerres, Guaitarilla, Santacruz, Aldana, Iles, Ospina, Contadero, Gualmatán, Pupiales, Guachucal y Cumbal. De todos estos, los municipios que mayor área poseen sobre ecosistemas de páramo son Cumbal y Mallama (Solarte *et al* 2007).

3.5 EL COMPLEJO *Espeletia*

El complejo *Espeletia* pertenece al orden Asterales, familia Asteraceae y subfamilia Heliantheae. Comprende ocho géneros: *Espeletia*, *Espeletiopsis*, *Coespeletia*, *Paramiflos*, *Carramboa*, *Libanothamnus*, *Ruilopezia* y *Tamania*. Específicamente el género *Espeletia* se caracteriza por presentar arbustos robustos, con o sin ramificación o hierbas gigantes rosuladas; hojas en rosetas basales o en rosetas caulescentes, generalmente marcescentes, vaginadas; flores del radio (externas) pistiladas, fértiles; flores del disco funcionalmente estaminadas; y papus ausente (Cuatrecasas 1976). Tiene cerca de 142 especies distribuidas exclusivamente en el norte de Suramérica. En los páramos de Colombia, Venezuela y Ecuador. Las plantas del género *Espeletia* constituyen uno de los elementos más dominantes de la fisonomía de la vegetación paramuna o de alta montaña tropical (Berry & Calvo 1994). *Espeletia* ha sido notificada como uno de los mejores ejemplos de radiación adaptativa en plantas (Monasterio & Sarmiento 1991).

El complejo es bastante diverso en aspectos como morfología, hábitats que ocupa, y características fisiológicas. Se encuentran gran variedad de formas de crecimiento, desde árboles altos caulescentes, hasta rosetas sésiles de pequeño porte, que habitan desde el bosque montano (alrededor de 2000 m) hasta el superpáramo (más de 4500 m). Algunas de las adaptaciones que le han permitido tener éxito ecológico son la forma de crecimiento, reproducción y los patrones de alocación de energía y biomasa (Smith 1980, Monasterio 1986, Monasterio & Sarmiento 1991). Varias adaptaciones morfológicas y fisiológicas se han desarrollado como un medio de escape o como una solución para tolerar las fluctuaciones extremas de temperatura en el clima diario (Smith & Young 1997). Las formas de crecimiento constituyen un ejemplo de adaptación a las presiones que ejerce el

ecosistema. Sin embargo no son exclusivas del páramo. Resulta interesante la recurrencia en el hábito de roseta y la correlación entre fisiología y las historias de vida en muchos lugares del nuevo y viejo mundo (Suramérica, Oriente de África y Hawái). Lo anterior soporta la idea de evolución convergente, pues estas características son aparentemente adaptaciones para ambientes tropicales de alta montaña (Knox & Palmer 1995). Adicionalmente algunos de estos casos coinciden con fenómenos de radiación adaptativa.

3.6 EVOLUCIÓN Y DISPERSIÓN DEL COMPLEJO *Espeletia*

En una radiación adaptativa aumenta la diversidad de los papeles ecológicos de las especies de un linaje (Givnish 1997), siendo uno de los fenómenos pilares del estudio de la evolución vegetal. La diversificación de linajes, de caracteres morfológicos y genómicos, y la diversificación ecológica, son tres aspectos claves dentro del estudio de este proceso evolutivo. El interés de la comunidad científica sobre la radiación del complejo *Espeletia* radica en los periodos relativamente cortos que necesitó para generar diversidades extremadamente altas. Esto ha generando preguntas aun no resueltas sobre su relación entre su morfológica y su genética. Se intuye que la variación de las formas sea un reflejo de la variación del código genético, sin embargo, esta relación aun es compleja y poco entendida dentro de los Espeletiinae (Sánchez 2005).

Rauscher (2000), realizó un estudio filogenético de los Espeletiinae utilizando la secuencia nuclear ITS (*Internal Transcribed Spacer region of 18-26S nuclear ribosomal DNA*), y obtuvo la primera filogenia molecular del complejo *Espeletia*. Los resultados obtenidos corroboraron la hipótesis sobre el origen biogeográfico y la dispersión del grupo propuesta por Smith & Koch (1935) y Cuatrecasas (1986), acerca de que fue la cordillera de Mérida en Venezuela donde hace aproximadamente cinco millones de años, en el Plioceno tardío, que apareció un proto Espeletiinae que posteriormente se dispersó hacia los páramos de Colombia y el Ecuador. Sin embargo, las relaciones entre especies halladas por Rauscher (2000) no concuerdan con los tratamientos taxonómicos basados en morfología. Estos hallazgos reflejan el patrón encontrado en las radiaciones adaptativas de otros grupos de plantas, donde los caracteres moleculares se encuentran en conflicto con los taxonómicos tradicionales (Sánchez 2005).

Las diferencias entre los patrones generados con datos morfológicos y moleculares pueden ser resultado de problemas en el tratamiento taxonómico tradicional de los Espeletiinae, o en las relaciones evolutivas halladas según la secuencia ITS. En el caso taxonómico, la dificultad puede ser explicada por la existencia de altas convergencias, y los caracteres diagnósticos como forma de las hojas, diversidad de hábito y arquitectura de inflorescencias son homoplasias. Si la dificultad es molecular, la explicación puede ser la

baja variación genética de las radiaciones adaptativas, que se corresponde pobremente con la variación morfológica (Rauscher 2000).

Aunque la hipótesis sobre el origen y dispersión de los Espeletiinae está soportada, la posición de la raíz en el árbol de la secuencia ITS no lo está, razón por la cual es necesario probar con otros genes. Los resultados de Rauscher (2000) también revelaron la presencia de un solo evento importante de diversificación desde Venezuela, a través de la depresión de Cúcuta, lo que discrepó de las hipótesis de Smith & Koch (1935) y Cuatrecasas (1986), quienes propusieron que la dispersión y diversificación se dio en múltiples eventos.

Las relaciones de los Espeletiinae con sus parientes más cercanos ya han sido estudiadas en diferentes investigaciones, pero aun no hay claridad sobre cuál es el grupo hermano del complejo. Según Smith & Koch (1935), el grupo estaba emparentado con *Polimnia*, sin embargo, este género fue determinado polifilético por Robinson (1981; citado por Sánchez 2005) y se dividió en *Polymnia* y *Smallanthus* y *Espeletia* fue relacionado con *Smallanthus*. Dentro de la subtribu Melampodiinae, el complejo se encuentra relacionado con los géneros *Rumfordia*, *Sigesbeckia*, *Smallanthus*, *Unxia* y *Trigonospermum* (Stuessy 1977; citado por Sánchez 2005). En especial con *Rumfordia* y *Smallanthus* (Panero *et al* 1999). Los datos obtenidos utilizando la secuencia ITS revelan que el género *Ichthyothere* es el grupo hermano del complejo, y el género *Smallanthus* se encuentra cercanamente emparentado (Rauscher 2000).

Los géneros propuestos por Cuatrecasas (1976, 1986), definidos por una serie de características morfológicas, no se reflejan en la filogenia molecular, aunque el complejo en general es monofilético, varios géneros como *Espeletiopsis*, *Espeletia* y *Coespeletia* son para o polifiléticos (Rauscher 2002). Sánchez (2005), en un estudio realizado con especies de distribución Colombiana utilizando el gen ITS del cloroplasto, confirma que el complejo es un grupo monofilético bien soportado, cuyo grupo hermano es *Ichthyothere*, aunque debido a que los datos del ITS del cloroplasto mostraron tendencias diferentes, no pudo identificar el origen geográfico del complejo.

3.7 EL ANÁLISIS ELÍPTICO DE FOURIER

El Análisis Elíptico de Fourier (EFA), descrito por Kuhl & Giardina (1982) es una poderosa aproximación paramétrica basada en la descripción del contorno de una estructura, con una serie de descriptores matemáticos denominados armónicas (Rohlf 1990a), que son una expresión de ondas seno y coseno de amplitud y periodo decrecientes, cuyo objetivo es la reconstrucción numérica de la misma (Lestrel 1997). De forma pormenorizada, el EFA reduce curvas complejas en sus componentes de frecuencias

espaciales (curvas trigonométricas) armónicamente relacionadas, a partir de un grupo de coordenadas cartesianas x,y que describen el contorno bidimensional de una forma. Las curvas descritas por estas coordenadas son ajustadas a la siguiente función trigonométrica descrita por Kuhl & Giardina (1982):

$$f(\theta) = A_0 + \sum_{n=1}^N a_n \cos n\theta + \sum_{n=1}^N b_n \sin n\theta$$

donde n es igual al número de armónicas, N es el número máximo de armónicas y el intervalo está sobre 2π .

Por cada armónica calculada, se producen cuatro Coeficientes Elípticos de Fourier (CEF) que describen el tamaño (amplitud) y las características angulares relativas a la posición de inicio de cada curva armónica (Haines & Crampton 2000). Los coeficientes del orden más bajo de armónicas corresponden a la forma general y las más altas a detalles más pequeños del contorno. (Kuhl & Giardina 1982; Kincaid & Schneider 1983). Aunque a cada CEF no se le puede atribuir explicaciones biológicas de forma independiente, su valor radica en que su conjunto describe la forma *per se* de los contornos analizados (Rohlf & Archie 1985), siendo este uno de los atributos más importantes de las formas biológicas (Haines & Crampton 2000).

La ventaja de estudiar un contorno desde esta perspectiva analítica, es que los datos pueden ser analizados estadísticamente. Este método ha mostrado ser robusto y susceptible a pequeñas pero consistentes variaciones en la forma de contornos de diferentes estructuras biológicas, tales como cráneos (Lestrel & Archie 1986), alas de insectos (Rohlf & Archie 1984), edeagus en las moscas de *Drosophila* (Polanco *et al* 2005), manchas genitales en *Drosophila* (Liu *et al* 1996), márgenes de ostrácodos (Kresler y Waters 1972), frutos (Cannon & Manos 2001), hojas (McLellan 1993; Kincaid *et al* 1998; McLellan *et al* 1998; Olsson *et al* 2000; Jensen *et al* 2002), contornos polínicos (Mirkin & Bagdasaryan 1972; Christopher & Waters 1974) entre otros.

3.8 EL ANÁLISIS ELÍPTICO DE FOURIER COMO HERRAMIENTA PARA RESPONDER PREGUNTAS SOBRE DIVERGENCIA POBLACIONAL EN ESPECIES VEGETALES

En los últimos veinte años hubo un gran incremento en la utilización de métodos morfogeométricos en estudios evolutivos, taxonómicos, filogenéticos, paleontológicos, de genética de poblaciones, biogeográficos etc., lo que se debe principalmente a la fácil

accesibilidad de los investigadores a los computadores personales, al software requerido para los análisis, y a la proliferación y disponibilidad de publicaciones teóricas sobre el tema (Haines & Crampton 2000). La morfometría –descripción, análisis e interpretación cuantitativa de la forma y su variación en estructuras biológicas– es un área fundamental de investigación, ya que las tareas que realiza sobre las formas biológicas son necesarias en cualquier estudio sistemático (fenético o cladístico) que se base en la morfología de organismos. Estas mediciones de la diversidad morfológica son además de interés tanto en estudios ecológicos como genéticos (Rohlf 1990).

Los beneficios del Análisis Elíptico de Fourier son bien conocidos y documentados, ya que proporcionan pruebas repetibles, objetivas e independientes, de hipótesis evolutivas, filogenéticas y taxonómicas, que se basan en estudios cuantitativos. Estas pueden especificar, cuantificar y localizar cambios morfológicos a través de la evolución y la ontogénesis, permitiendo medir tasas de evolución y separación taxonómica (Haines & Crampton 2000). Dentro de este contexto, algunas investigaciones han tratado ciertas estructuras vegetales bajo la técnica del Análisis Elíptico de Fourier, para medir la diferenciación morfológica entre individuos de una misma especie o población, especies de un mismo género y poblaciones de una misma especie geográficamente aisladas, con el objetivo de estimar su divergencia y encontrar patrones biogeográficos

En plantas, la utilización del Análisis Elíptico de Fourier como técnica morfométrica sobre diferentes estructuras anatómicas ha proveído un cuerpo de conocimientos continuamente creciente y ha sido capaz de responder preguntas sobre la variación fenética y genética de poblaciones y especies, y su relación con variables ambientales como el aislamiento biogeográfico, el tamaño poblacional y otros aspectos de historia natural. Estas aplicaciones han permitido descubrir que la forma *per se* es un indicador bastante efectivo de este tipo de variabilidad. Las laminas foliares han sido por excelencia las estructuras más utilizadas en este tipo de estudios, ya que proporcionan estimaciones bastante verosímiles sobre variación intrapoblacional, interpoblacional e interespecífica (Lönn & Prentice 1995; McLellan & Endler 1998; White *et al* 1998; Kincaid *et al* 1998; Jensen *et al* 2002; Olsson *et al* 2000; Rumpunen & Bartish 2002; Benavides *et al* 2010). Sin embargo también se han usado con los mismos propósitos estructuras como los granos de polen (Mirkin & Bagdasaryan 1972; Christopher & Waters 1974), frutos (Cannon & Manos 2000, 2001) y flores (Shipunov & Bateman 2005; Ramírez *et al* 2007) como otros proxy de variación.

En cuanto al tema específico de las formas foliares, el Análisis Elíptico de Fourier ha sido usado satisfactoriamente en especies y poblaciones vegetales, como una forma de estimar la variación genotípica heredable a partir de la cuantificación fenotípica de la forma foliar *per se*, y ha mostrado resultados exitosos en estudios de divergencia poblacional, estructura

poblacional, filogeografía, biogeografía, filogenia y ecología (Mc Lellan & Endler 1998; Jensen *et al* 2002^a, Molau & Prentice 1992, Lönn & Prentice 1995). Según Molau & Prentice (1992) y White *et al* (1998), la forma *per se* de las hojas es un descriptor muy sensible de la diferenciación individual y poblacional en plantas y a diferencia del tamaño, posee la particularidad de compilar más características heredables (Olsson *et al* 2000), sin estar tan condicionada por las condiciones ambientales como la humedad, temperatura, tipo de suelos, nutrientes etc (Dickinson *et al* 1987). El tamaño en contraste (largo, ancho, área) está determinado en un mayor porcentaje por aspectos ambientales y no representa la variación inter e intrapoblacional (Nybom *et al* 1996, Brunell & Whitkus 1997).

Esta particularidad ha facilitado el desarrollo de estudios rápidos de diferenciación y estructuración de la variación inter e intra poblacional en especies como *Saxifraga cespitosa*, *Saxifraga tenius*, *Saxifraga cernua* (Molau & Prentice 1992), *Hippocrepis emerus* (Lönn & Prentice 1995), *Chaenomeles japonica*, *Chaenomeles speciosa*, *Chaenomeles cathayensis*, *Chaenomeles thibetica* (Rumpunen & Bartish (2002), *Rosa canina*, *Rosa villosa*, *Rosa sheradii*, *Rosa dumalis*, *Rosa rubiginosa* (Olsson *et al* 2000) entre otras, usando los Coeficientes Elípticos de Fourier de los contornos foliares como alternativas razonables a los marcadores moleculares. De hecho, en algunas especies ha existido una alta correlación entre los datos de diferenciación poblacional revelados con el Análisis Elíptico de Fourier y con marcadores moleculares (Lönn & Prentice 1995, Olsson *et al* 2000, Rumpunen & Bartish 2002), indicando que los Coeficientes Elípticos de Fourier de la forma foliar poseen una base genética. Algunos autores han propuesto incluso que bajo ciertas condiciones, los datos cuantitativos de morfometría resultarían más efectivos que los datos moleculares para estudiar el fenómeno de la divergencia poblacional (Lewontin 1984), ya que los primeros están usualmente gobernados por muchos loci. Sin embargo, siempre es necesaria la comparación de ambas técnicas para generar una visión multidisciplinar del problema abordado.

Otra bondad del Análisis Elíptico de Fourier de la forma foliar ha sido su alta correlación con variables como la distancia geográfica entre poblaciones vegetales y el tamaño de su área de distribución, lo cual permite que esta técnica pueda ser usada como una aproximación muy poderosa para resolver problemas biogeográficos, filogeográficos y específicamente, de divergencia poblacional (Lönn & Prentice 1995, Benavides *et al* 2010)

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 *Espeletia pycnophylla* Cuatrec.

Espeletia pycnophylla (Figura 1) (especie conocida vulgarmente como “Frailejón”) es una roseta gigante, caulescente y perenne, endémica de los Páramos del suroccidente de Colombia y del norte y centro del Ecuador, constituyéndose en uno de los componentes más conspicuos de estos ecosistemas (Solarte *et al* 2007; Mena & Medina 2001). Sus características diagnósticas son las hojas sésiles altamente pubescentes con forma lanceolada a elíptica, inflorescencias desnudas (Cuatrecasas 1986), con una longitud en estado maduro entre 30 y 40 cm. Poseen alturas máximas de 4 a 5 m y diámetros del tallo que oscilan entre 6 y 8 cm (Laegard 1992). Su principal mecanismo reproductivo es la polinización cruzada con niveles altos de autoincompatibilidad (Gonzales *et al* 2009). Sus semillas carecen de pappus y no son ornitócoras, lo que implica una gran restricción para la dispersión a largas distancias. Estas semillas caen al piso cuando las inflorescencias se deshidratan lo suficiente después del periodo de fructificación, y las plántulas crecen cerca de la planta madre, produciendo un patrón de distribución agregado (Benavides *et al* 2007).

E. pycnophylla presenta un ámbito de distribución geográfica bastante disyunto, formado por varias poblaciones geográficamente aisladas, las cuales se ajustan al concepto de *isla biogeográfica* de Carlquist (1974). Por esta razón, Cuatrecasas (1986) propuso la existencia de tres niveles infraespecíficos: *E. pycnophylla* var *galerana*, *E. pycnophylla* spp. *angelensis* y *E. pycnophylla* spp. *llanganatensis*. Sin embargo, no hay evidencias posteriores que confirmen la validez filogenética de estos grupos, y además, aun existen poblaciones que permanecen sin estudiar.

Figura 1. *Espeletia pycnophylla*. Fotografía: Felipe Benavides copyright® 2010



4.2. *Espeletia schultesiana* Cuatrec. (ESPECIE DE REFERENCIA U OUTGROUP)

Esta especie es una roseta caulescente de 1 a 2 m de alto, perenne, de hojas muy pubescentes, obovadas, oblongas y sésiles, con una longitud en estado maduro, de entre 30 y 60 cm. Crece generalmente en páramos de bajas elevaciones (2600 m), que se forman en terrenos con escasa pendiente y con suelos anegados, en clima muy húmedo. Se conoce de la vertiente oriental del Nudo de los Pastos, departamentos de Nariño y Putumayo/Guamués, entre 2500 y 3500 m de altitud. Su área incluye las orillas de la laguna de La Cocha, el páramo de El Estero – Santa Lucía, el piedemonte del cerro Patascoy, los páramos de Quilinsayaco, Tambillo y El Bordoncillo, así como algunos sectores arriba del valle de Sibundoy, en los municipios de Colón y San Francisco (García *et al* 2005). En cuanto a aspectos reproductivos y de patrones de distribución espacial, esta especie es muy similar a *E. pycnophylla* (Cuatrecasas 1986) (Figura 2).

Figura 2. Individuos de *Espeletia schultesiana* en el Páramo del cerro Bordoncillo. Fotografía: Felipe Benavides copyright© 2010.

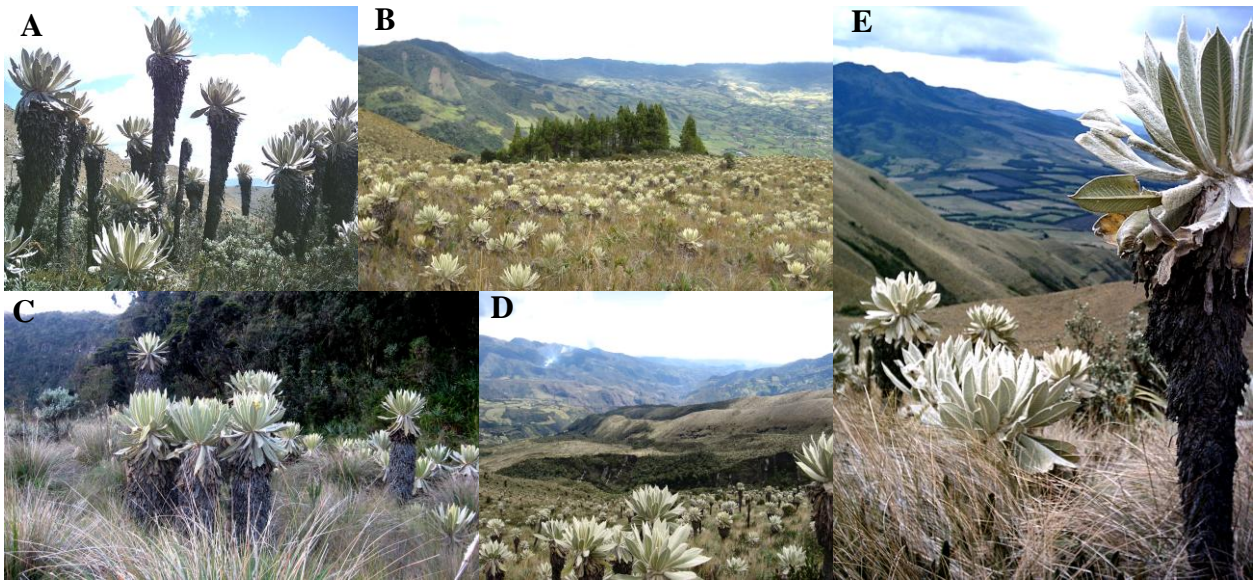


4.3 POBLACIONES DE ESTUDIO

En este estudio se definió operativamente una población, como un grupo de individuos con un área de distribución delimitada, espacialmente aislada de otras y claramente identificable a nivel cartográfico, lo que permitió abordarlas como unidades diferenciables, muestreables

y comparables. Esta definición de tipo espacial posee implícitas ciertas características biológicas, ya que las distancias entre los individuos de cada población (con posibilidades de polinización, intercambio genético y consanguinidad) y la relativa homogeneidad ambiental dentro de cada una (en comparación con las otras) hacen según Crawford (1984), que las poblaciones seleccionadas sean grupos genéticamente cohesionados.

Figura 3. Algunos individuos de *Espeletia pycnophylla* en diferentes Páramos de Nariño: A) Volcán Chiles; B) Cerro Morasurco; C) Volcán Galeras; D) Volcán Azufral y E) El Infiernillo. Fuente: Este estudio. Fotografías: Felipe Benavides copyright© 2010.



Con base en estos criterios, se seleccionaron seis poblaciones de *E. pycnophylla* con distintos grados de aislamiento geográfico. Además, se escogieron dos poblaciones de la especie *Espeletia schultesiana* en los páramos azonales de la Cocha y en el Páramo del cerro Bordoncillo, con el objetivo de utilizarlas como grupos de referencia u “Outgroups” de comparación (Figura 4). Según Cuatrecasas (1986) y García *et al* (2005), en estos páramos solo está presente *E. schultesiana*, lo que facilitó su ubicación. Estas ocho poblaciones se seleccionaron por su pronunciado aislamiento geográfico y su carácter insular, según la clasificación de Páramos de Solarte *et al* (2007). Las poblaciones hacen parte de dos complejos geomorfológicos, el Suroccidental y el Centro-Oriental, segregados por el cañón del río Guaitara, lo que implica marcadas diferencias en cuanto a sus regímenes climáticos. En adición a estos criterios de selección, existen también otras barreras geomorfológicas que pueden acentuar el aislamiento por distancia, como el altiplano de Túquerres, el espejo de agua de la laguna de la Cocha y el valle de Atríz. La Tabla 1 muestra algunos de los atributos más importantes de las ocho poblaciones de

estudio. Entre cada par de poblaciones se calculó la distancia biogeográfica de Leftkovitch (β_{ij}) (1984) (Tabla 2), que equivale a la mínima línea recta entre ellas. Estas distancias que no son necesariamente euclidianas sino distancias de Hausdorff, representan la probabilidad potencial de contacto físico entre dos poblaciones, lo que puede resultar en flujo genético dado su apropiado grado de consanguineidad (Leftkovitch 1984). Todas las β_{ij} se calcularon sobre el mapa de la Figura 4, mediante dos operaciones básicas: 1) conversión de las áreas de distribución de cada población a polígonos convexos y 2) trazado de una línea recta entre los vértices más cercanos de cada par de poblaciones y medición de su longitud en kilómetros. Todo este proceso se llevó a cabo en plataforma ArcGis ver 9.3. Un ejemplo al respecto se muestra en la Figura 5.

Figura 4. Ubicación geográfica de las ocho poblaciones de estudio. Modificado de Solarte *et al* (2007) en plataforma ArcGis. * Poblaciones de *E. schultesiana*.

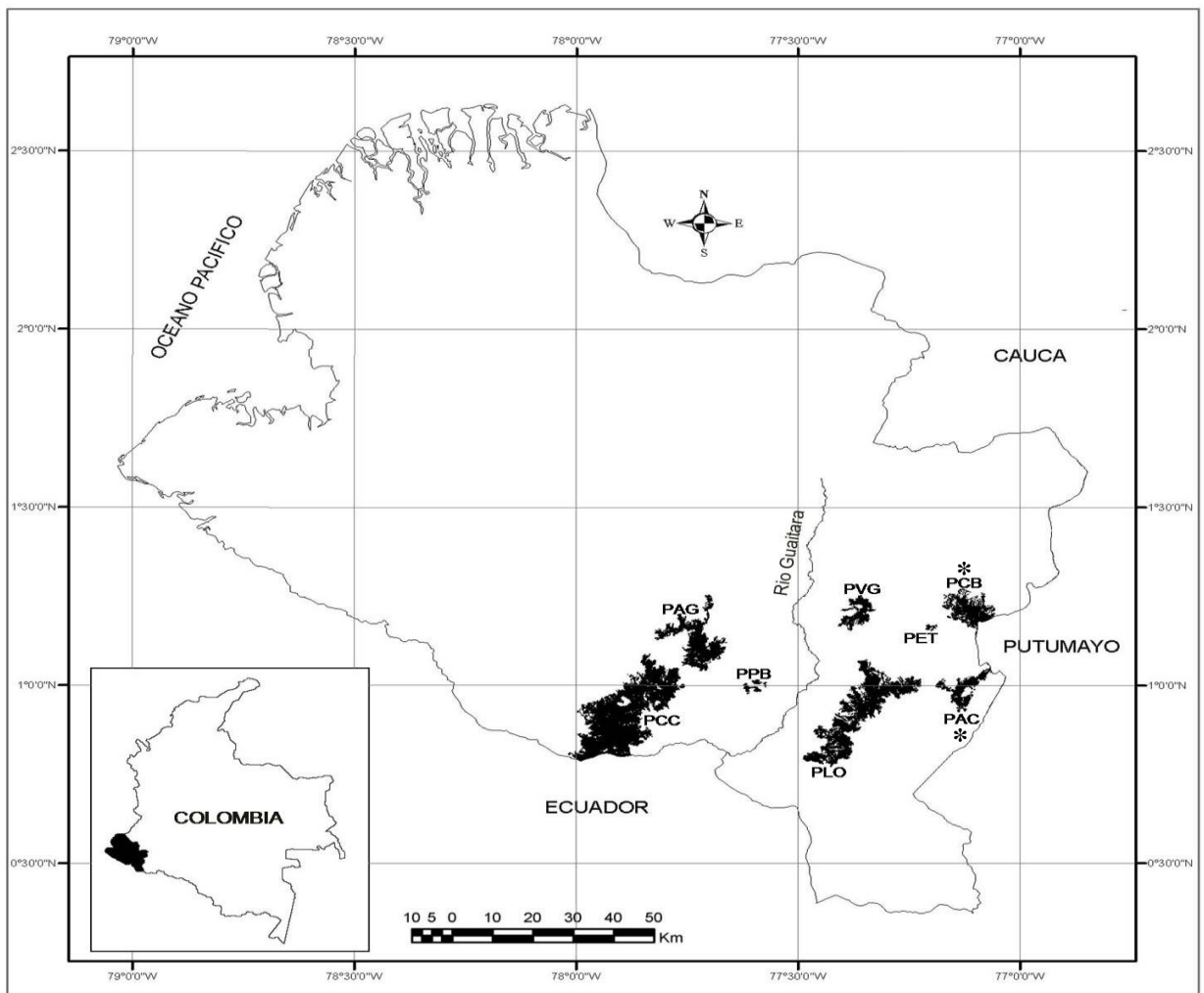


Figura 5. Ejemplo de la medición de distancias biogeográficas (β_{ij}) mediante el método de Leftkovitch (1984) en plataforma ArcGis 9.3. La línea roja indica la transformación de de las áreas poblacionales a polígonos convexos. El cálculo de distancias biogeográficas obedece a la formula $\beta_{ij} = \min[d(I,J), d(J,I)] \approx \max[d(I,J), d(J,I)]$, siendo I y J un par de poblaciones (Leftkovitch 1984).

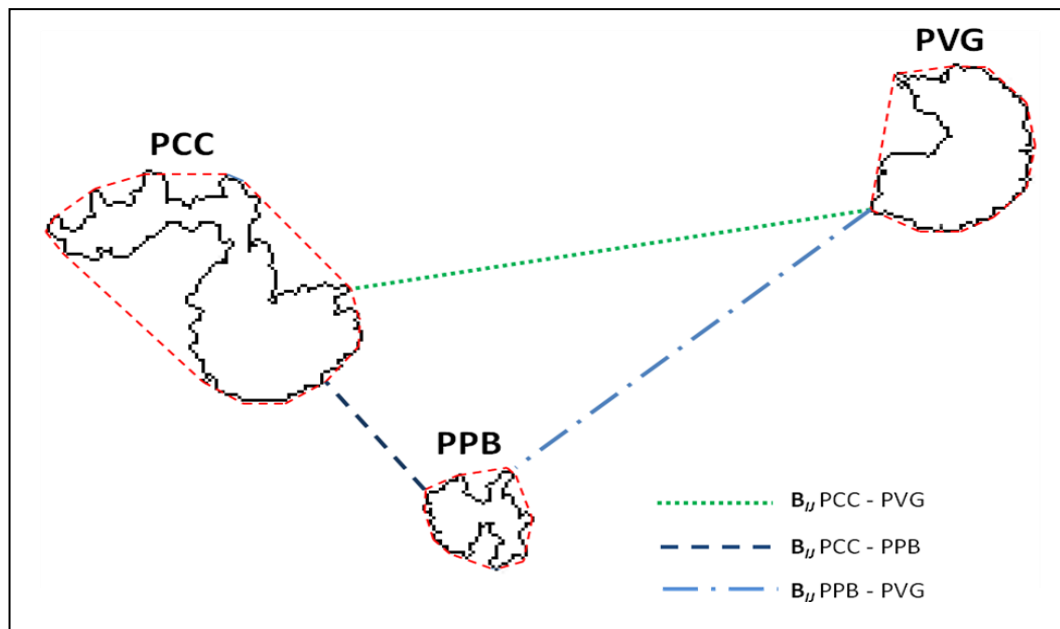


Tabla 1. Poblaciones de estudio y algunas de sus características más relevantes.

Población	Localización geográfica	Elevación (m)	Tamaño (Ha)	AMC (Ha)	Complejo	n
Población de Chiles-Cumbal						
PCC	00° 56' 08,8" N - 77° 49' 01,5" W	3595	61642	12,5	Suroccidental	90
Población de Azufral Gualcalá						
PAG	01° 05' 10,54 N - 77° 44' 31,58" W	3454	6632	1,32	Suroccidental	90
Población del Páramo de Paja Blanca						
PPB	00° 57' 18,9" N - 77° 34' 45,2" W	3343	624	0,12	Suroccidental	90
Población del Páramo del Volcán Galeras						
PVG	01° 11' 00,6" N - 77° 20' 57,8" W	3569	3229	0,65	Centro-Oriental	85
Población del Páramo de las Ovejas						
PLO	00° 50' 14,4" N - 77° 23' 58,5" W	3347	20405	4,16	Centro-Oriental	80
Población del Páramo El Tábano						

PET	01° 07' 26,0" N – 77° 12' 21,5" W	3550	500	0,10	Centro-Oriental	83
Población de los Páramos azonales de la Cocha						
PAC*	00° 59' 27,7" N – 77° 09' 46,0" W	2801	3120	0,63	Centro-Oriental	80
Población del Páramo del Cerro Bordoncillo						
PCB*	01° 08' 39,8" N – 77° 05' 57,0" W	3237	6335	1,29	Centro-Oriental	90

N 686

* Población referencia de *E. schultesiana*, las coordenadas de muestreo coinciden con las referencias del herbario COL de la Universidad Nacional de Colombia.

La autorización de investigación para la población PVG fue obtenida mediante el permiso DEC309/2010, expedido por Parques Nacionales Naturales de Colombia.

Los datos de Tamaño poblacional fueron calculados con el programa ArcGis ver 9.3. Ver subcapítulo de Análisis geográfico y paleogeográfico.

Los puntos de muestreo para cada población fueron designados según permisos investigación expedidos por la Subdirección de Intervenciones para la Sostenibilidad Ambiental de CORPONARIÑO, excepto para PVG.

Tabla 2. Matriz de distancias biogeográficas (β_{ij}) en Km entre las ocho poblaciones de estudio.

	PCC	PAG	PPB	PVG	PLO	PET	PAC	PCB
PCC	0							
PAG	3,5	0						
PPB	16,5	12,8	0					
PVG	47,3	32,5	29,5	0				
PLO	35,5	38,1	18,6	11,9	0			
PET	69,5	56,6	48,1	16,1	11,0	0		
PAC	66,9	58,2	42,9	28,0	2,4	13,1	0	
PCB	77,8	63,9	57,8	21,6	20,3	4,0	6,1	0

4.4 CARACTERÍSTICAS DE LAS POBLACIONES SELECCIONADAS

En este aparte se mencionan algunas de las características geográficas y climáticas más relevantes de cada población para el contexto de la investigación. Un resumen unificado sobre precipitación, temperatura y aspectos geomorfológicos se presenta en la Tabla 3.

4.4.1 Población Chiles-Cumbal (PCC). Es la población de mayor extensión en todo el departamento de Nariño, la cual está presente en un corredor de Paramos binacional entre

Colombia y Ecuador. Está ubicada en la zona occidental del nudo de los pastos y comprende un rango altitudinal entre los 3200 y 3800 m de elevación. Posee un régimen de lluvias bimodal, siendo Abril, Mayo, Octubre y Noviembre los meses más lluviosos y Julio y Agosto los más secos (Armero 2004). El sitio se caracteriza por su alta influencia volcánica (Volcanes Chiles, Cumbal y Azufral), por poseer suelos relativamente secos y por presentar un patrón de vegetación paramuna tipo frailejona-pajona dominado por las especies *Espeletia pycnophylla* y *Calamagrostis effusa*.

4.4.2 Población de Azufral-Gualcalá (PAG). Se tomaron muestras en la Reserva Natural Azufral, en las áreas pertenecientes al corregimiento de Guaicés (Fig 4 c), localizado cerca al Municipio de Túquerres. Su ubicación geográfica está entre 1°05' N y 77° 43' W. La Reserva se encuentra entre los 3200 - 4000 msnm. Este volcán al igual que sus vecinos el Chiles y el Cumbal está asociado a la falla geológica regional Cauca-Patía (Solarte *et al* 2007).

4.4.3 Población del Páramo de Paja Blanca (PPB). De este páramo se tomaron muestras en la zona correspondiente al Municipio de Gualmatán, ubicado entre 0° 56'47'' N y 77° 34' 23'' W. Se trata de una zona montañosa interandina ubicada hacia el sur del cañón del Río Güaitara, que no sobrepasa los 3500 m de elevación, siendo uno de los complejos paramunos más pequeños del departamento de Nariño. El sitio en general es históricamente muy intervenido por actividades antrópicas como la agricultura, ganadería, trazo de caminos de conexión inter.-corregimientos para transporte de contrabando, quemados etc. (Solarte *et al* 2007). La asociación frailejona-pajona es muy reducida y su distribución se limita a pequeños parches en las cimas de las montañas. Al parecer muchos de estos parches son producto de la "paramización", un fenómeno por el cual la vegetación típica del frailejona-pajona crece de forma oportunista en espacios de tierra quemados o erosionados antropogénicamente, en áreas que corresponden a vegetación de los bosques achaparrados (Obs. Pers).

4.4.4 Población del Páramo del volcán Galeras (PVG). Ubicado en el ramal centro oriental de la cordillera de los Andes en el Nudo de los Pastos, hacia el extremo suroccidental de Colombia en el departamento de Nariño. Su distribución altitudinal se encuentra entre los 1900 m y los 4200 (López 2005). Está ubicado geográficamente entre 01°15' 41.16'' N y 077° 26' 28.73'' W. Su relieve es predominantemente montañoso, y existen relictos de vegetación natural representados en el bosque andino nublado y páramo (Acosta y Rivadeneira, 2003). Para esta población, los muestreos se realizaron en el sector conocido como "Valle de los Frailejones" perteneciente al Santuario de Flora y Fauna Galeras, de acuerdo al permiso DEC309/2010, expedido por Parques Nacionales Naturales de Colombia.

4.4.5 Población de El Tábano (PET). Está ubicada al suroriente de la ciudad de Pasto y hace parte de los páramos circundantes del Valle de Atríz. Es junto a PPB una de las poblaciones más pequeñas del departamento de Nariño, carece de un plan de manejo operante y presenta una de las amenazas más importantes de la región debido a la expansión agrícola de los corregimientos y veredas de los alrededores de Pasto. Por su posición intra Andina su régimen de precipitación es bajo en relación al resto de páramos, aunque en su flanco más oriental recibe influencia húmeda del Amazonas (Solarte *et al* 2010).

4.4.6 Población de los Páramos Azonales de la Cocha (PAC). Están ubicados a 27 Km al suroccidente de la ciudad de Pasto; a una altitud promedio de 2570 msnm. Su ubicación geográficamente está entre 1° 01N y 1° 10 N y 77° 05 y 72 °12 W. Estas formaciones paramunas son consideradas como verdaderas anomalías ecológicas y aun se desconoce la razón exacta de su presencia (UAESPNN 2004). Para esta población, los muestreos se realizaron en la Reserva Natural Santa Isabel.

4.4.7 Población del Páramo del Cerro Bordoncillo (PCB). Está situado, en la confluencia de las regiones andina y amazónica, localizado entre 0° 53' 28.55'' y 1° 20' 36.40'' de latitud norte y 76° 50' 50.41'' y 77° 14' 17.37'' de longitud oeste. Limita al oeste con la divisoria de aguas entre la cuenca Alta Guamués y las cuencas Pasto y río Bobo. Se extiende por su flanco norte aguas abajo hasta encontrar la cota 3.200 en la divisoria de aguas entre las Cuencas del río Runduyaco y la quebrada Tambillo, hasta la divisoria de aguas entre las cuencas del río San Pedro y las quebradas de la Isla y el Mayo (Solarte *et al* 2007).

Tabla 3. Resumen de algunas características de clima y geomorfología más relevantes de cada población

Población	Temperatura media anual	Precipitación media anual (mm)	Tipo predominante de suelos	Tipo de páramo según la precipitación promedio
PCC	10.6	966	1,4,6,7	Muy Seco
PAG	7,8	962	1,3,6,7	Muy Seco
PPB	11.8	1350	1,2,5	Seco
PVG	12.2	1250	1,3,5	Seco
PET	12	1200	1,5,6	Seco
PLO	11.6	1450	1,2,5,7	Húmedo
PAC	15.2	1230	1,3	Seco
PCB	9.8	2150	1,5,6	Muy Húmedo

1: Typic melanocryands

2: Terric cryosaprists

3: Histic cryaquands

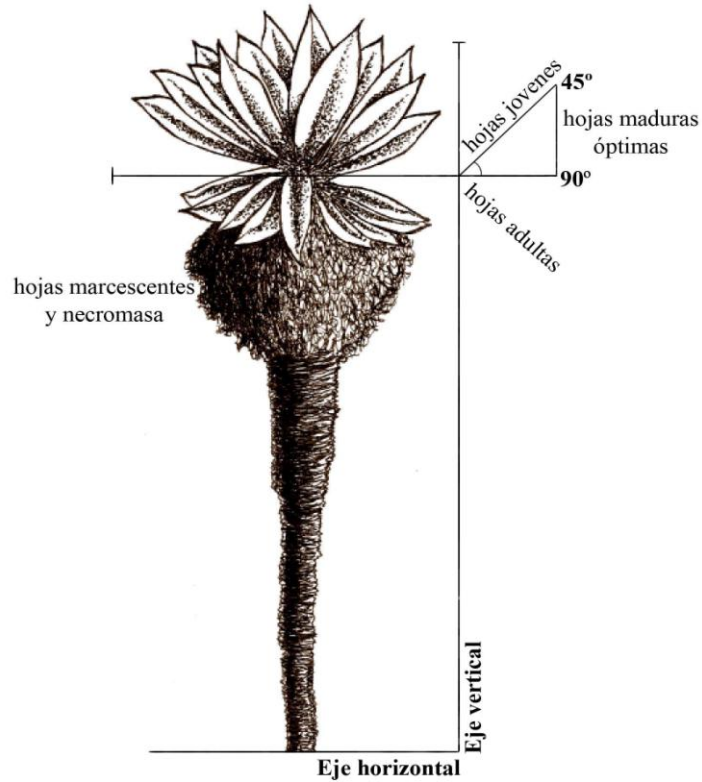
- 4: Lithic melanocryands
- 5: Acrudoxic melanudands
- 6: Acrudoxic hapludands
- 7: Typic placudands

4.5 DISEÑO Y MUESTREO

Dentro de cada población se estableció un área de muestreo circular (AMC) en sitios designados y autorizados por CORPONARIÑO, por tratarse de zonas de fácil accesibilidad, aptas para investigación. Las AMC se trazaron con ayuda de dos diámetros perpendiculares marcados con pita, que permitieron delimitar una circunferencia. Las AMC fueron proporcionales al área total de cada población, lo que eliminó el sub o sobre-muestreo y permitió que las ocho poblaciones fueran comparables en términos relativos de sus tamaños. Este método es adecuado en poblaciones vegetales, ya que debido a la reducida vagilidad de sus individuos, la estructura espacial implica una estructura genética (Loveless & Hamrick 1984) y la variabilidad genotípica y fenotípica están usualmente correlacionadas con la magnitud de su área de distribución (Barret & Kohn 1991; Ouborg *et al* 1991; Lammi *et al* 1999). En cada AMC se seleccionaron aleatoriamente 50 individuos adultos con una altura total de 70 a 150 cm desde el suelo, y con evidencias de al menos un evento de floración (presencia de inflorescencias o pedúnculos). De cada uno se muestrearon aleatoriamente dos hojas (cortándolas desde su base) de entre aquellas que se identificaron como completamente desarrolladas y libres de cualquier tipo de daño morfológico como herbivoría, necrosis o marchitamiento. Este tipo de hojas se encuentran en un ángulo de 45° a 90° con respecto al eje vertical de la planta (Figura 6). El muestreo empleado en este diseño fue de carácter mixto ya que se usaron criterios estratificados y aleatorios.

Inmediatamente después de su escisión, todas las hojas fueron prensadas a una presión estándar de 50 kg-fuerza con una prensa mecánica especialmente diseñada, con el objetivo de aplanarlas, expandirlas y obtener la mejor expresión de su forma, haciendo evidentes tanto los detalles generales como particulares de su contorno. Este diseño generó una muestra poblacional de $n = 100$ y una muestra total de $N = 800$ hojas. Sin embargo, después del prensado algunas hojas se deterioraron y debieron descartarse, lo que desbalanceó el número real de hojas por población a ser utilizadas en los subsiguientes análisis morfométricos y estadísticos (Tabla 1). No obstante, este desbalance se consideró insignificante, ya que todas las muestras oscilaron entre 80 – 90 hojas por población, con un total de $N = 686$ hojas utilizadas para el estudio.

Figura 6. Esquema de un individuo adulto de *E. pycnophylla* y el tipo de hojas muestreadas según su disposición y desarrollo. Modificado de Benavides *et al* (2007)

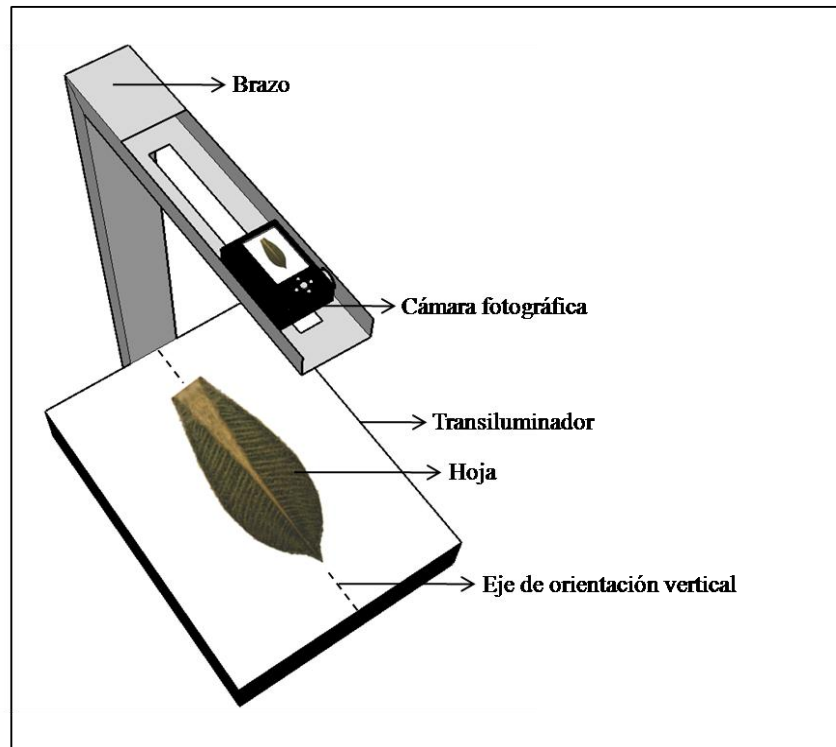


4.6 CAPTURA DE FOTOGRAFÍAS

La captura de las imágenes se llevó a cabo dentro de un proceso estandarizado, aspecto neurálgico en estudios de morfometría, ya que de su rigurosidad dependen la calidad y confiabilidad de los datos, resultados y conclusiones. En este sentido se diseñó un brazo con transiluminador, cuyo esquema se indica en la Figura 7. Esta estructura consta de un brazo de aluminio en forma de L y de un transiluminador construido con una caja de madera cubierta con una lámina de acrílico blanca y translúcida, dentro de la cual se instalaron tres lámparas de luz halógena. Este dispositivo mantuvo invariante la posición y orientación de las hojas y la cámara fotográfica durante todo el estudio, eliminando los errores sistemáticos. Todas las hojas fueron alineadas a lo largo de su eje vertical sobre el transiluminador y fotografiadas en su superficie abaxial (que ofrece la ventaja de obtener una mejor expansión foliar que la superficie axial) con una cámara Sony CyberShot de 7,2 mpx en un recinto oscuro. La única fuente de luz utilizada para esta tarea fue el transiluminador, que permitió la adquisición de imágenes de alto contraste y facilitó la subsiguiente obtención de los contornos foliares. Las fotografías obtenidas fueron

convertidas a una matriz duotono (blanco y negro) y su contraste se aumentó al máximo mediante el software imageJ.

Figura 7. Esquema del dispositivo construido para la captura de fotografías de las hojas de *E. pycnophylla* y *E. schultesiana*. Diseño: Felipe Benavides copyright® 2010.



4.7 ANÁLISIS MORFOMÉTRICO

Los contornos de las 686 hojas fueron obtenidos de forma automatizada a partir de sus fotografías, y digitalizados a un sistema de coordenadas x,y con el software TpsDig 2. Una vez digitalizados todos los contornos, se procedió a realizar el Análisis Elíptico de Fourier (AEF) con el software EfaWin (Isaev 2, calculando las primeras 70 armónicas o transformaciones elípticas de cada contorno, cantidad que fue necesaria para reconstruir matemáticamente la forma de todas las hojas –tanto aquellas de margen entero como irregular- con una precisión satisfactoria.

Este procedimiento se realizó con base en la propuesta de Kuhl & Giardina (1982), según la cual, cada armónica o transformación elíptica está conformada por cuatro descriptores numéricos (a,b,c,d) que corresponden a una transformación seno y coseno para cada par de

coordenadas x, y . Estos descriptores se denominan técnicamente Coeficientes Elípticos de Fourier (CEF), y poseen la siguiente expresión matemática:

CEF para la proyección x :

$$a_n = \frac{1}{n^2 2\pi} \sum_{p=1}^q \frac{\Delta x_p}{\Delta t_p} [\cos(nt_p) - \cos(nt_{p-1})]$$

$$b_n = \frac{1}{n^2 2\pi} \sum_{p=1}^q \frac{\Delta x_p}{\Delta t_p} [\sin(nt_p) - \sin(nt_{p-1})]$$

CEF para la proyección y :

$$c_n = \frac{1}{n^2 2\pi} \sum_{p=1}^q \frac{\Delta y_p}{\Delta t_p} [\cos(nt_p) - \cos(nt_{p-1})]$$

$$d_n = \frac{1}{n^2 2\pi} \sum_{p=1}^q \frac{\Delta y_p}{\Delta t_p} [\sin(nt_p) - \sin(nt_{p-1})]$$

Los CEF fueron estandarizados en cuanto a tamaño, posición, rotación y punto de inicio de la digitalización del contorno con el programa EfaWin 2, y en consecuencia, la información contenida en ellos fue únicamente la forma *per se* de cada hoja individual. De esta forma, los CEF fueron las variables utilizadas en los análisis estadísticos. Finalmente se utilizó el programa Efa-estadística para convertir los resultados del análisis Elíptico de Fourier a matrices de extensión txt, organizadas en n filas por m columnas, con cada cuatro filas representando una armónica, una fila completa representando la forma *per se* de un individuo, y una matriz completa representando las formas *per se* de una población. Se utilizó también la transformación inversa de Fourier (Haines & Crampton 2005) para calcular la forma promedio de las hojas de cada población, y tener así una visualización gráfica de su variación. Adicionalmente, se calculó de forma automatizada el área foliar de cada hoja con el programa TpsDig, a partir del número de píxeles dentro de cada contorno. Esto con el objetivo anexo de tener un referente de la variable “tamaño”, para ser comparada con la forma *per se* en cuanto a las relaciones interpoblacionales que generan.

4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todo el tratamiento estadístico de datos fue realizado con los programas SPSS ver 15 y Past ver 1.98 (Hammer & Harper 2009), utilizando un nivel de confianza $\alpha = 0,05$. Se tuvieron en cuenta los requisitos de normalidad y homocedasticidad para las pruebas paramétricas y se eliminaron los valores atípicos que se encontraron por fuera de los intervalos de confianza del 95%.

4.8.1 Variación interpoblacional. La comparación entre las ocho poblaciones de estudio se realizó por medio de un Análisis Discriminante o de Variables Canónicas, utilizando las poblaciones como grupos y los individuos como réplicas, lo que significa que se tuvo en cuenta tanto la variación dentro de las poblaciones como la existente entre éstas. Este procedimiento genera funciones discriminantes canónicas con base en combinaciones lineales de las variables originales (en este caso los CEF), que explican la mayor parte de la varianza interpoblacional en unas pocas dimensiones, permitiendo una observación de los patrones de variación en un plano bi o tridimensional (Figueras 2000, Abaira & Pérez 1996). Dichas funciones discriminantes se construyeron con el método de Fischer, que usa la siguiente ecuación.

$$n^{\text{ésima}} \text{ FDC} = a_1 \text{ CEF}_1 + a_2 \text{ CEF}_2 + a_3 \text{ CEF}_3 + \dots a_n \text{ CEF}_n$$

Donde FDC significa Función Canónica Discriminante y está determinada por la sumatoria de los productos de cada CEF por la constante a , la cual corresponde al peso o importancia de cada CEF dentro de cada función discriminante. Esto se aplica desde la primera hasta la $n^{\text{ésima}}$ armónica.

Dado que cada armónica está compuesta de 4 CEF, y se utilizaron 70 armónicas en el AEF, se contó con 280 variables para este modelo. El estadígrafo Lambda de Wilks (Λ) fue utilizado como indicador del poder discriminante de cada función (siendo 0 y 1 el máximo y mínimo poderes discriminantes respectivamente) y su significancia se probó con una prueba de χ^2 , para la que la hipótesis nula establece que no existen diferencias significativas entre poblaciones, y la alternativa que hay diferencias al menos entre un par de estas. Posteriormente se utilizaron las comparaciones a posteriori de Hotelling (corregidas con el método de Bonferroni) para inferir en qué pares de poblaciones (de los 28 posibles) se presentaron diferencias significativas. Finalmente se graficaron las funciones discriminantes significativas en planos cartesianos bi y tridimensionales para observar gráficamente la forma, magnitud y el sentido con el que las poblaciones varían entre sí, teniendo en cuenta: 1) todas las hojas descritas con el AEF, y 2) solo los centroides poblacionales.

4.8.2 Relación entre variación morfométrica y distancia geográfica. Para evaluar la relación entre la variación morfométrica y la distancia geográfica interpoblacional se utilizaron tres aproximaciones:

A) Una prueba de Mantel (1967) con 5000 permutaciones aleatorias (permutaciones de los residuos de un modelo nulo), con la cual se buscó la existencia de una correlación lineal entre dos tipos de matrices: a) La matriz de distancias biogeográficas β_{ij} (Tabla 2) entre cada uno de los 28 pares de poblaciones, que corresponden a todas las combinaciones por pares, posibles de formar con las ocho poblaciones de estudio ($n \cdot (n-1)/2$) ($8 \cdot 7/2 = 28$) y b) una matriz de distancias morfométricas entre los 28 pares poblacionales (Tabla 4). Esta

matriz fue construida con base en distancias euclidianas entre los centroides morfométricos de los mismos pares, calculadas con la formula:

$$D_{pq} = \sqrt{\sum_{i=1}^n (p_i - q_i)^2}$$

Donde D_{pq} es la distancia euclidiana entre un par de poblaciones y está determinada por la raíz cuadrada de la sumatoria de las diferencias al cuadrado de los promedios de cada uno de los 280 CEF, desde la primera (i) hasta la setentava armónica calculada (n). El mismo procedimiento se utilizó para evaluar la correlación entre las matrices de tamaño foliar vs distancia morfométrica y tamaño foliar vs distancia geográfica.

Tabla 4. Matriz de distancias morfométricas entre los centroides morfométricos de las ocho poblaciones. El dendrograma derivado de esta matriz corresponde a la Figura 13B.

	PCC	PAG	PPB	PVG	PLO	PET	PAC	PCB
PCC	0							
PAG	0,0072	0						
PPB	0,0078	0,0111	0					
PVG	0,0102	0,0118	0,0051	0				
PLO	0,0148	0,0154	0,0093	0,0056	0			
PET	0,0126	0,0113	0,0095	0,0060	0,0064	0		
PAC	0,0173	0,0179	0,0123	0,0081	0,0038	0,0079	0	
PCB	0,0195	0,0192	0,0142	0,0103	0,0055	0,0089	0,0038	0

La prueba de Mantel funciona como un análogo de la correlación lineal, buscando la existencia de una relación estadística recíproca entre un par de variables, pero su diferencia radica en que utiliza matrices y no variables individuales. La ventaja de esta prueba es que utiliza un n número de permutaciones, que permiten disminuir al máximo el error estadístico tipo 1, o sea de identificar como un correlación significativa a algo que solamente es resultado del azar (Mantel 1967).

En este caso, el uso de 5000 permutaciones permite obtener una confiabilidad del 99% en los resultados.

B. Una prueba de Leftkovitch (1984) para explorar la existencia de una asociación entre las conexiones inter-vértices (inter-poblaciones) de dos árboles de mínima expansión (AME):

i) Un AME construido con base en la posición de cada población en un plano geográfico, el cual se elaboró tomando las distancias biogeográficas entre los puntos de muestreo de cada población y ubicándolas en un plano cartesiano X, Y; y ii) un AME morfométrico, construido a partir de la posición de los centroides poblacionales de morfometría foliar, proyectados en las dos primeras funciones discriminantes calculadas (Figuras 10A y 10B). Posteriormente se calcularon las conexiones para cada AME y entre cada vértice (población) con la ayuda del software Past 1.98.

Los AME son grafos derivados de una serie de puntos dispersos en un espacio n-dimensional (en este caso bidimensional, primera y segunda funciones discriminantes X, Y) que conectan todos los vértices (poblaciones) usando la ruta más corta posible. Su utilidad en este tipo de investigaciones radica en permitir una aproximación no paramétrica para determinar si la distancia biogeográfica está relacionada con la diferenciación morfométrica en una serie de especies o poblaciones, prescindiendo de los limitantes generados por el tipo de distribución de los datos. Si las conexiones entre los vértices de cada AME coinciden en buena proporción, se puede concluir entonces con un determinado grado de probabilidad que existe una asociación entre ambos y por consiguiente, las relaciones de similitud y disimilitud morfométrica interpoblacional pueden estar estructuradas en parte, por el aislamiento geográfico entre ellas. (Leftkovitch 1984). Esto último se puso a prueba construyendo una tabla de contingencia (Tabla 7) con los datos de vértices compartidos y no compartidos entre cada AME y aplicando una prueba de Chi-cuadrado según la metodología de Leftkovitch (1984).

C) El uso del índice de Rand $c(Y' Y)$ (1971) para examinar si los agrupamientos inerpoblacionales generados con las matrices de distancias biogeográficas y morfométricas coinciden en cuanto a sus topologías. Para obtener los agrupamientos se construyeron dos dendrogramas, uno usando la matriz de distancias biogeográficas β_{ij} (Tabla 2) y otro con la matriz de distancias morfométricas (Tabla 4). Ambos fueron calculados con él con el método de Ward en el software Past 1.98. Posteriormente contó el número de coincidencias y discrepancias entre cada uno, esto es, la cantidad de veces en las que cada uno de los 28 pares poblacionales aparecieron juntos, separados y mezclados en cada dendrograma. A partir de estos datos se aplicó la siguiente fórmula:

$$c(Y' Y) = \frac{\text{número de coincidencias en el dendrograma}}{\text{número total de pares poblacionales}}$$

4.8.3 Relación entre tamaño del área poblacional y variación morfométrica intrapoblacional. Se utilizó una prueba de F (Zar 1996) para inferir si las varianzas morfométricas entre las ocho poblaciones son significativamente diferentes. Posteriormente

se utilizó la prueba de Spearman para evaluar la correlación entre estas varianzas y el tamaño de las áreas de distribución poblacionales. Las varianzas utilizadas fueron calculadas con base en las tres primeras funciones del análisis discriminante.

5. RESULTADOS

5.1 ANÁLISIS MORFOMÉTRICO

Las 70 armónicas utilizadas en el AEF permitieron una reconstrucción adecuada y fidedigna de todos los contornos foliares. A medida que se aumentó el número de armónicas se obtuvo un mejor ajuste de las formas reconstruidas a las originales. Aunque las hojas de contorno más simple podrían ser descritas satisfactoriamente utilizando un máximo de 30 armónicas, esta cantidad no fue suficiente para captar los detalles más finos de aquellas hojas con contornos más complejos, presentes en las poblaciones PCC y PAG. Por otro lado, el empleo 70 armónicas permitió lograr un 99,9% de discriminación interpoblacional (según el valor de Lambda de Wilks Λ) y un 96,5% de individuos correctamente clasificados a sus poblaciones de origen, lo que puede ser considerado como un resultado muy satisfactorio. Esto evidenció además, que las armónicas de orden superior y por lo tanto, los detalles más finos del contorno foliar, son atributos importantes y significativos para diferenciar poblaciones. La Figura 8 muestra cómo el poder de discriminación interpoblacional y el porcentaje de individuos correctamente clasificados a los grupos establecidos *a priori* aumentan de forma logarítmica a medida que se incrementa el número de armónicas.

Figura 8. Relación entre el número de armónicas utilizadas para reconstruir las formas foliares, su eficacia en la discriminación interpoblacional y el porcentaje de hojas correctamente clasificadas a las poblaciones establecidas *a priori*. Estos valores fueron obtenidos realizando varios análisis discriminantes consecutivos, en los que se varió deliberadamente el número de armónicas entre 1 y 70.

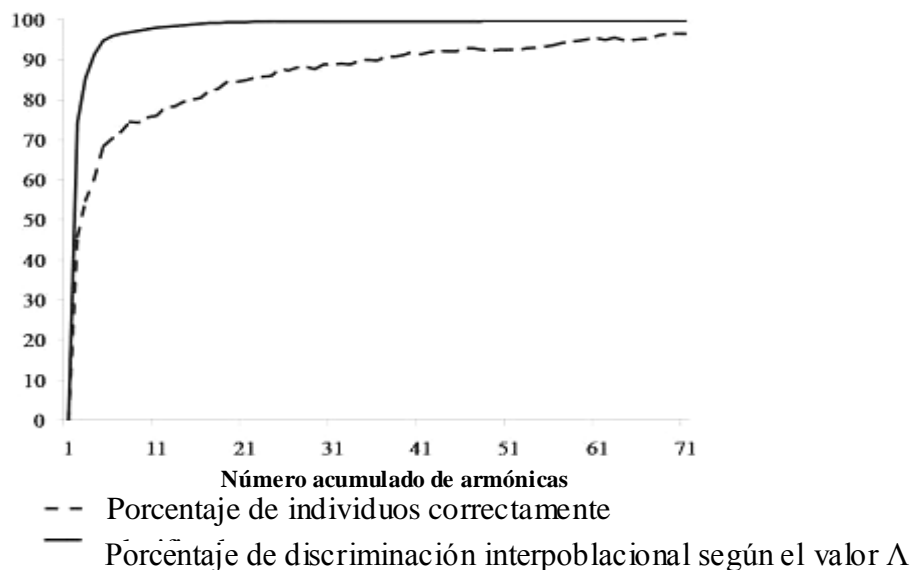


Figura 9A. Reconstrucción de las formas foliares promedio para las poblaciones PCC, PAG, PPB y PVG para un número acumulativo de armónicas. Esto se logró mediante la aplicación de la función inversa de Fourier. También se muestra su forma foliar promedio original, resultante de promediar las coordenadas X,Y de las hojas de cada población.

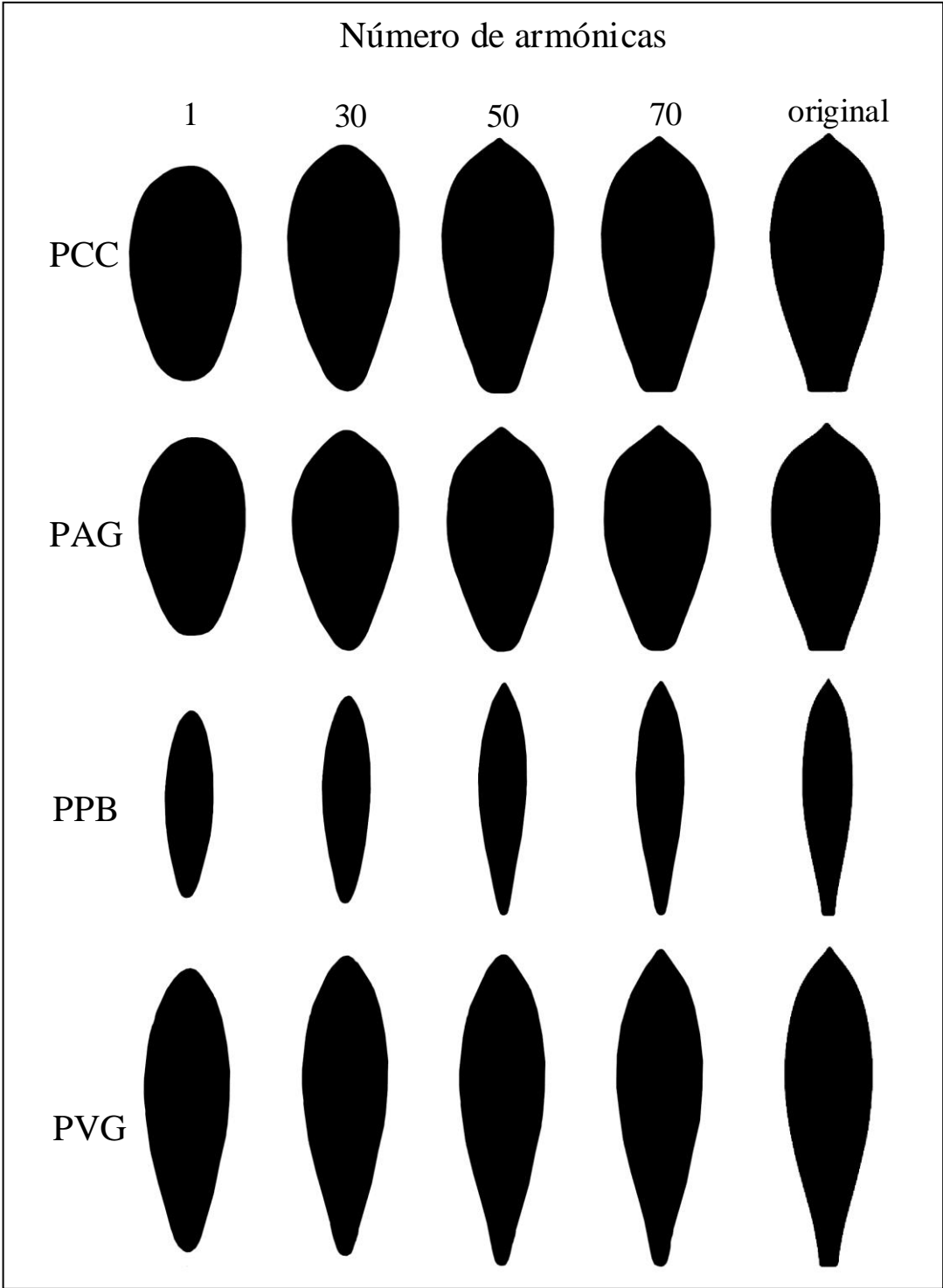
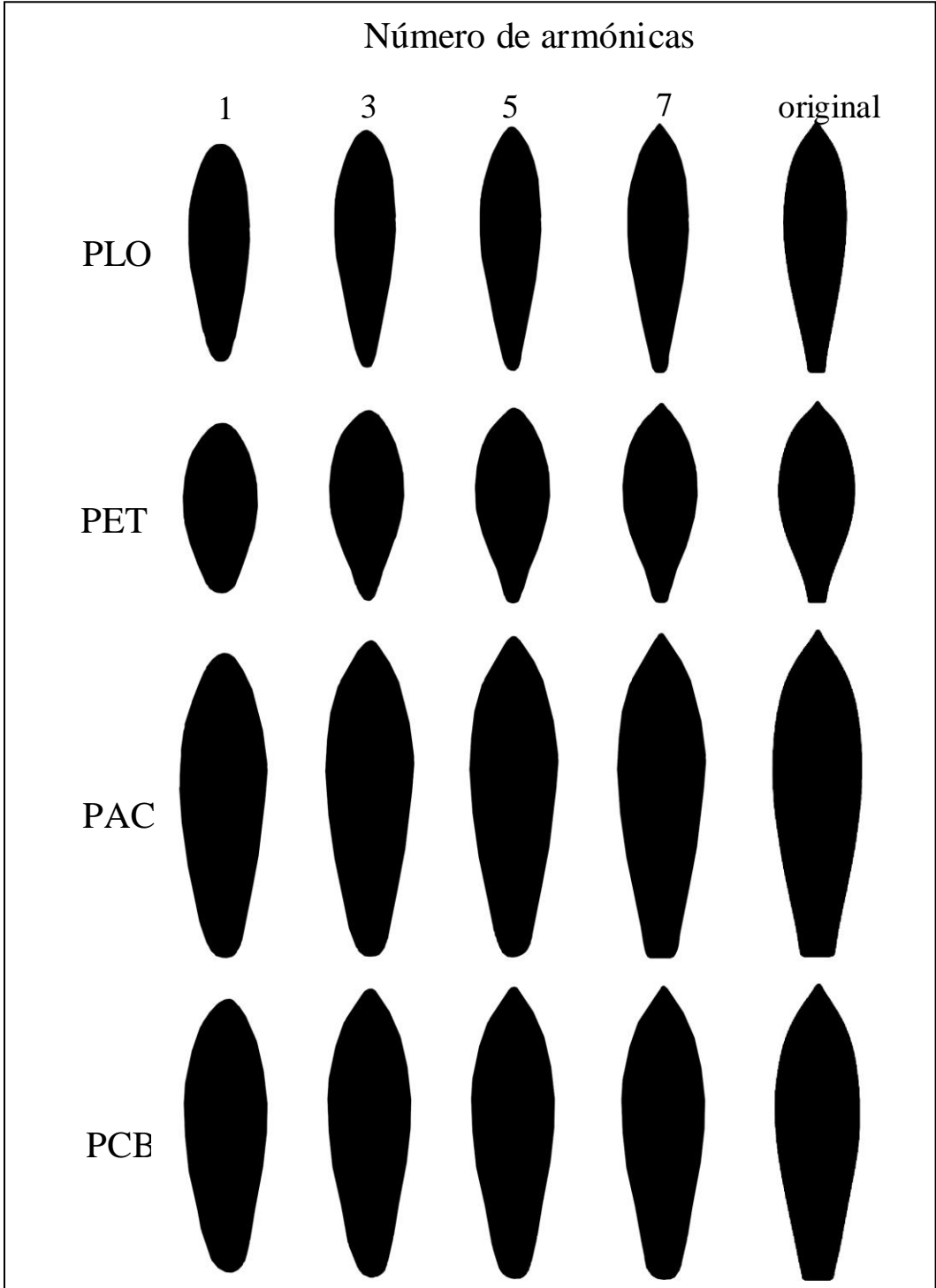


Figura 9B. Reconstrucción de las formas foliares promedio para las poblaciones PLO, PET, PAC y PCB para un número acumulativo de armónicas. Esto se logró mediante la aplicación de la función inversa de Fourier. También se muestra la forma foliar promedio original, resultante de promediar las coordenadas X, Y de las hojas de cada población.



Los CEF de las 70 armónicas del AEF se usaron también para calcular la forma foliar promedio de cada población, lo que permitió entender de forma inicial que la variación interpoblacional de la forma foliar está determinada principalmente por dos atributos geométricos que son su elongación y esfericidad, tal como se observa en las Figuras 9A y 9B. En general, hojas con mayor esfericidad se corresponden con una menor elongación y viceversa, existiendo un gradiente de variación entre todas las poblaciones. Es conspicuo por ejemplo, que las hojas promedio de las poblaciones PCC y PAG son más esféricas y menos elongadas que las del resto de poblaciones. Sin embargo, estas relaciones se puntualizarán en los siguientes capítulos.

5.2 VARIACIÓN Y DIVERGENCIA INTERPOBLACIONAL

Mediante el análisis discriminante se encontró que existen diferencias significativas entre todas las poblaciones, y que seis funciones canónicas que en conjunto explicaron el 96,4% de la varianza interpoblacional original, fueron necesarias para describir esta discriminación (Tabla 5). Lo anterior demostró que la forma foliar es un carácter inequívocamente divergente entre las ocho poblaciones de estudio. Sin embargo la magnitud de estas diferencias varía dependiendo de cada par de poblaciones, ya que existen pares con diferencias máximas (PCB – PAG) (PCB – PCC); diferencias mínimas (PAC – PCB) (PCB – PLOS) y, un cierto rango de valores intermedios. Los valores Λ de cada función discriminante muestran que la capacidad discriminatoria disminuye exponencialmente con cada función, siendo las tres primeras las que permiten una separación interpoblacional mayor al 95%. La Tabla 6 muestra la significancia estadística de discriminación entre todas las poblaciones.

Tabla 5. Estadígrafos y probabilidades de discriminación interpoblacional según el análisis discriminante realizado con base en los CEF foliares de las ocho poblaciones de estudio.

Función Canónica	Autovalor	Lambda de Wilks (Λ)	Porcentaje de discriminación	Porcentaje de varianza acumulado	Chi-cuadrado	p
1	6,58	0,00002	99,9%	38,8	4173	***
2	3,81	0,004	99,6%	61,8	3065	***
3	2,80	0,018	98,2%	74,0	2196	***
4	1,61	0,05	95,0%	83,6	1582	***
5	1,34	0,14	86,0%	91,5	1056	***
6	0,83	0,34	66,0%	96,4	590	*

Significancia estadística: * = $p < 0,05$, *** = $p < 0,001$

Tabla 6. Significancia estadística de las diferencias entre cada par de poblaciones. Valor de probabilidad encontrado según las comparaciones por pares de Hotelling, con correcciones de Bonferroni. Significancia estadística según el nivel crítico ($\alpha = 0,05$) propuesto para el estudio

	PCB	PAC	PET	PVG	PLOS	PPB	PCC	PAG
PCB	0	**	***	***	***	***	***	***
PAC	6,0E-03	0	***	***	***	***	***	***
PET	7,7E-09	1,92E-07	0	***	***	***	***	***
PVG	5,95E-11	1,5E-04	3,93E-12	0	***	***	***	***
PLOS	1,0E-04	3,26E-05	4,09E-06	4,66E-06	0	***	***	***
PPB	4,75E-15	3,59E-12	2,13E-13	6,98E-08	1,11E-06	0	***	***
PCC	1,72E-21	3,41E-16	3,40E-10	9,44E-12	1,78E-09	2,82E-09	0	***
PAG	2,34E-22	1,63E-13	8,03E-09	3,88E-13	7,66E-11	4,36E-12	1,40E-06	0

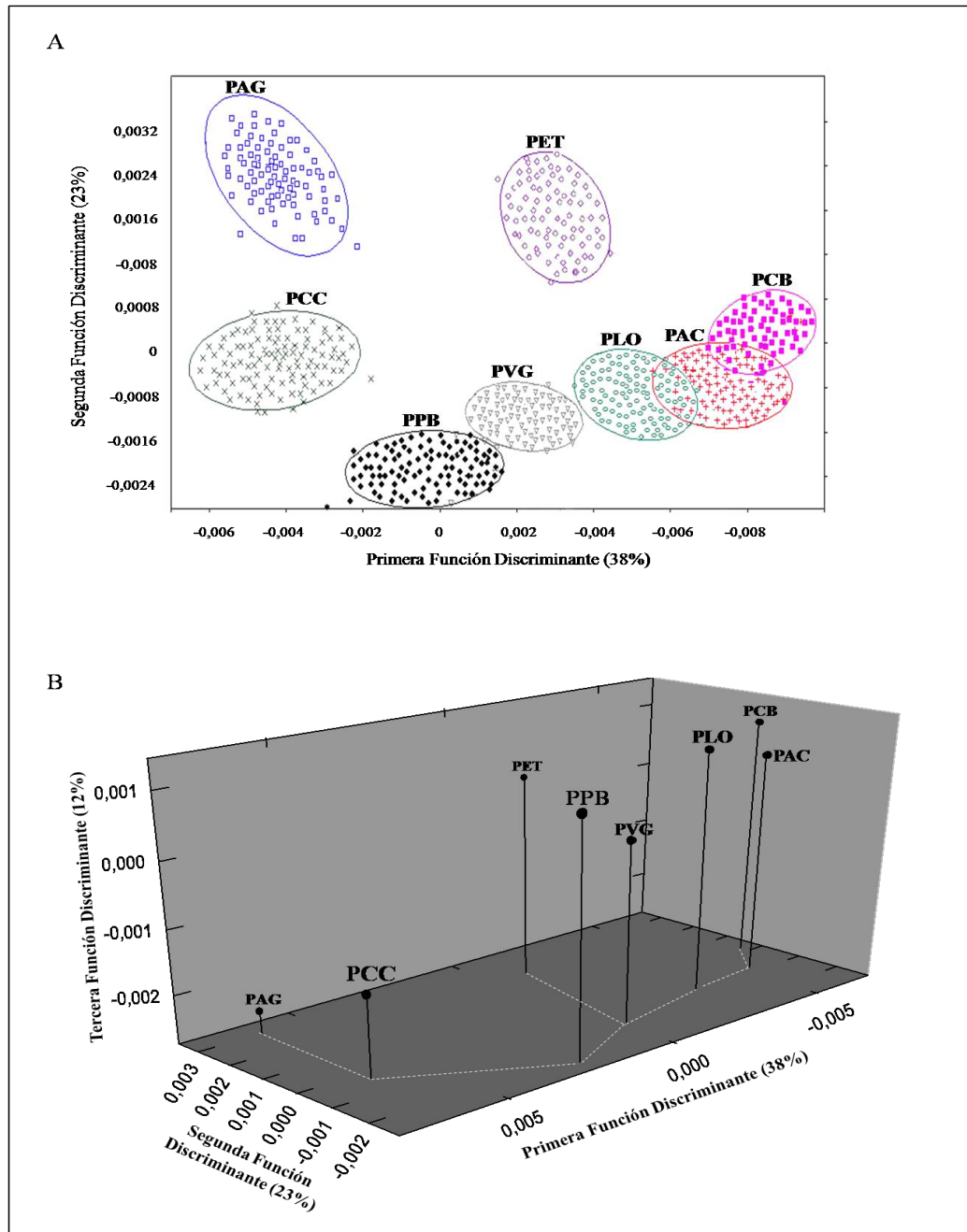
Significancia estadística: ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$

La Figura 10 ofrece una visión gráfica de esta variación, donde se muestra la posición de cada hoja, grupo, centroide poblacional y, la magnitud y sentido de variación dentro de las tres primeras funciones discriminantes. La Figura 10A muestra como se distribuyen los grupos, los individuos que los componen y su intervalos de confianza del 95% en un espacio bidimensional constituido por las dos primeras funciones discriminantes. La Figura 10B muestra la posición de los centroides de cada población en un espacio tridimensional representado por las tres primeras funciones. En ambos casos, el área y volumen de cada figura respectivamente, pueden ser entendidos como un *espacio de Fourier* o un *espacio de forma*, donde se proyectan todos los individuos y sus poblaciones de pertenencia, de tal manera que su ordenación es una representación cartesiana de cómo varían entre sí, en total y en promedio respecto a su forma.

Inspeccionando este *espacio de forma*, es claro que existe un gradiente de variación entre las ocho poblaciones, que va desde PCC hasta PCB. Este par de poblaciones es el más disímil ya que se ubica en los extremos del gráfico, mientras que PCB, PAC y PLO son las que mayor similitud comparten debido a que son las más próximas en el *espacio de forma* y además, sus intervalos de confianza del 95% presentan los mayores grados de

solapamiento. Es interesante notar además que las poblaciones PCB y PAC que corresponden a la especie de referencia *E. schultesiana*, no se ubicaron alejadas de las poblaciones de *E. pycnophylla* como cabría esperar por el hecho de ser una especie diferente, sino que contrariamente, éstas poseen mayor similitud con algunas poblaciones de *E. pycnophylla*, evidenciando que su variación no concuerda con la de un *outgroup* para este estudio. A manera de patrón general, la Figura 10B permite identificar que las ocho poblaciones estudiadas se organizan en tres grupos dentro del *espacio de forma*; el primero ubicado a la izquierda del gráfico y conformado por PCC y PAG; el segundo en la parte central con PVG, PPB y PET y el tercero hacia la parte derecha con las poblaciones PLO, PAC y PCB. Esta organización, lejos de ser aleatoria, concuerda en buena medida con los agrupamientos geográficos de los complejos de Páramos Sur-Occidental y Centro-Oriental, tal como se demostrará en los siguientes análisis.

Figura 10. Diagramas de dispersión del análisis discriminante o *espacio de forma*, realizado con las 70 armónicas del AEF. A) Dispersión del total de hojas y poblaciones en las dos primeras funciones discriminantes, las elipses representan los intervalos de confianza del 95% para cada población. B) Dispersión de los centroides poblacionales en las tres primeras funciones discriminantes. Las líneas punteadas representan un AME entre las poblaciones.

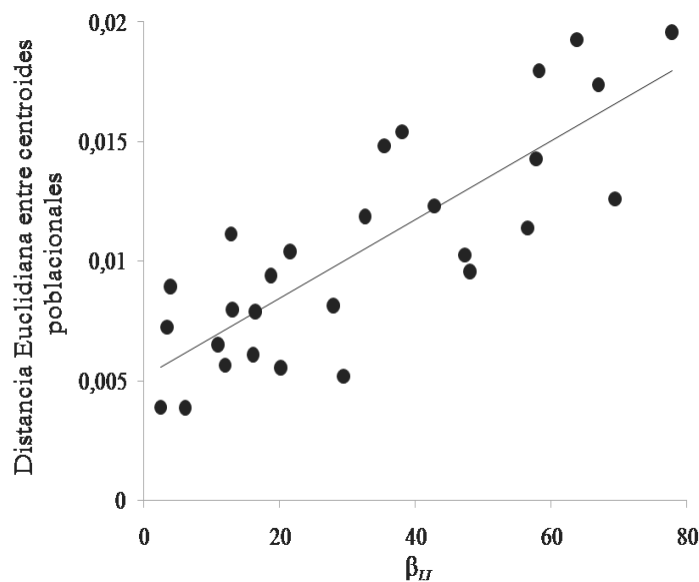


5.3 RELACIÓN ENTRE VARIACIÓN MORFOMÉTRICA Y DISTANCIA GEOGRÁFICA

La prueba de Mantel reveló una correlación positiva y altamente significativa entre las matrices MFM y GEO ($r = 0,80$, $p = 0,001$), revelando que la variación en la matriz interpoblacional de diferencias morfométricas, fue explicada en un 80% y a manera de función lineal, por la variación en la matriz de distancias biogeográficas (β_{II}). Este resultado fue puesto a prueba con 5000 permutaciones o combinaciones aleatorias de las celdas de cada matriz, lo que demuestra que la probabilidad de que el patrón obtenido pueda ser generado al azar es menor o igual a uno en mil.

La Figura 11 muestra una representación x,y de este patrón, con las distancias β_{II} de cada par poblacional organizadas de forma creciente en las abscisas, y su respectiva diferencia morfométrica promedio en las ordenadas. Esto puso de manifiesto que a medida que aumenta la distancia biogeográfica entre cualquier par de poblaciones, incrementa también de forma lineal y proporcional su diferenciación morfométrica. En otras palabras, existe una tendencia significativa a que poblaciones separadas por mayores distancias espaciales, presenten una divergencia morfométrica mayor que poblaciones más cercanas en el espacio geográfico.

Figura 11. Relación entre distancia biogeográfica (β_{II}) y divergencia morfométrica foliar, medida como la distancia euclidiana entre los centroides poblacionales. La línea recta representa la regresión lineal sobre los datos.



La prueba de Leftkovitch también mostró una asociación altamente significativa entre las matrices de datos morfométricos y biogeográficos ($\chi^2 = 14,29$, $p = 0,002$). Tal como lo muestra la Figura 12, en ambos Árboles de Mínima Expansión construidos con estas matrices se forman cinco conexiones comunes, que corresponden a los pares poblacionales PAC-PCB, PAC-PLO, PAG-PCC, PCC, PPB, PET-PVG y PPB-PVG, quedando solo dos conexiones no compartidas: PCB-PET y PLO-PVG. Por lo tanto, cinco conexiones de las siete formadas se compartieron entre ambos gráficos, lo que se tradujo en un 71% de similitud. Este resultado demuestra que las relaciones de similitud y disimilitud en cuanto a las distancias biogeográficas entre las ocho poblaciones, se reflejan en un 71% en sus relaciones de similitud y disimilitud morfométrica. Por ejemplo, poblaciones como PAG-PCC que son cercanas a nivel geográfico (comparten una línea conectora en el AME biogeográfico) son también cercanas o similares nivel morfométrico (comparten una línea conectora en el AME morfométrico). La tabla de contingencia (Tabla 7) para probar el nivel de significancia de este modelo con la prueba de Chi-cuadrado, fue elaborada contando el número de conexiones interpoblacionales presentes y ausentes en cada gráfico para los 28 pares poblacionales, con la premisa de que potencialmente todos pueden tener una conexión.

Figura 12. A) Árbol de mínima expansión construido con base en las distancias biogeográficas (β_{IJ}) de las ocho poblaciones de estudio, y su ubicación en el espacio geográfico. B) Árbol de mínima expansión construido con base en la ordenación de los centroides morfométricos poblacionales en los dos primeros ejes de un análisis de escalamiento multidimensional. El número 1 representa conexiones similares entre un par de poblaciones en ambos gráficos y el 0 conexiones disímiles.

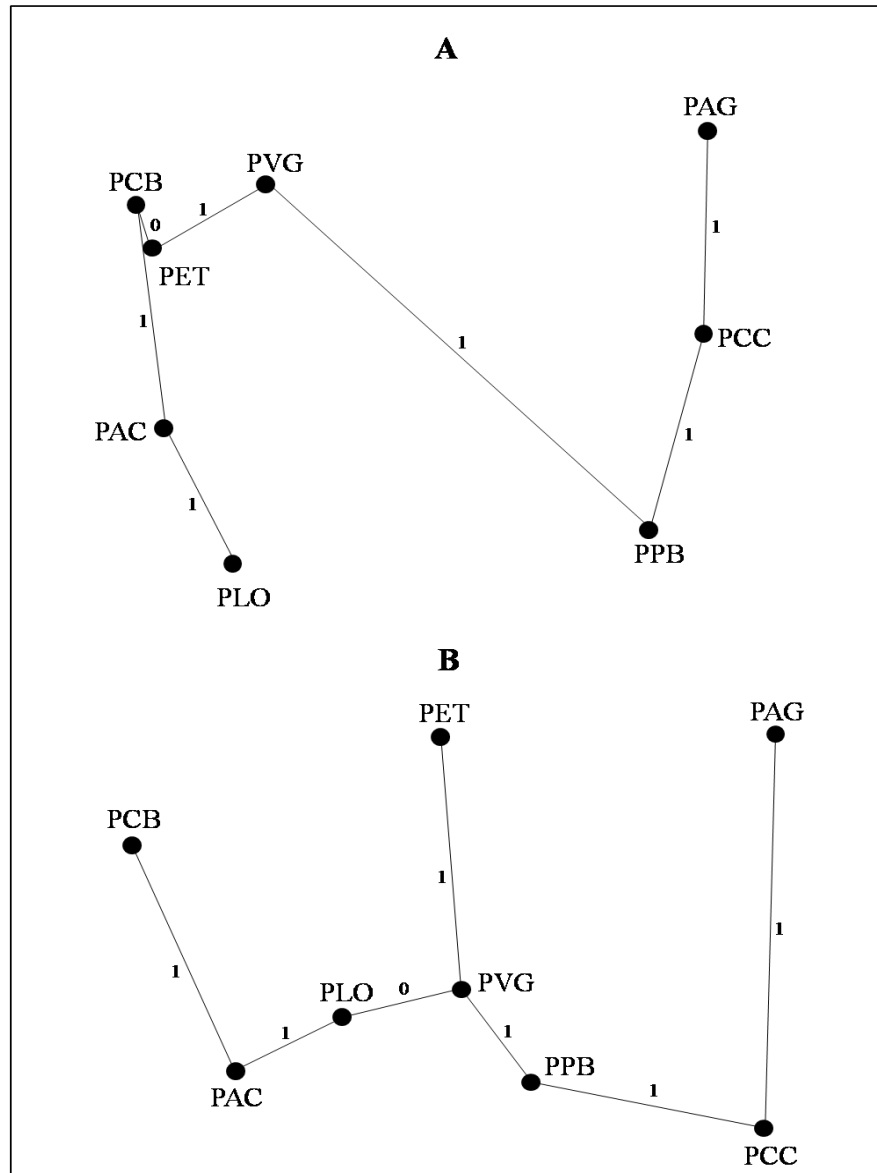


Tabla 7. Tabla de contingencia de las conexiones interpoblacionales presentes para los AME morfométrico y biogeográfico

Tabla de contingencia 2 x 2		AME EFA	
		Conexiones presentes	Conexiones ausentes
AME GEO	Conexiones presentes	6	1
	Conexiones ausentes	1	20

AME GEO: Árbol de mínima expansión de la matriz de distancias biogeográficas

AME EFA: Árbol de mínima expansión de la matriz de distancias morfométricas

.Desde una perspectiva general, la tendencia que muestra la prueba de Leftkovitch es similar a la encontrada con la prueba de Mantel, ya que poblaciones que se encuentran más cercanas en el espacio geográfico, poseen una forma foliar promedio más similar que aquellas separadas por distancias geográficas mayores. A pesar de las desviaciones encontradas con los pares PET-PCB y PLO-PVG, casos atípicos del patrón general, un 71% de similitud significativa debe ser considerada como satisfactoria, debido a que la naturaleza de la prueba es no paramétrica.

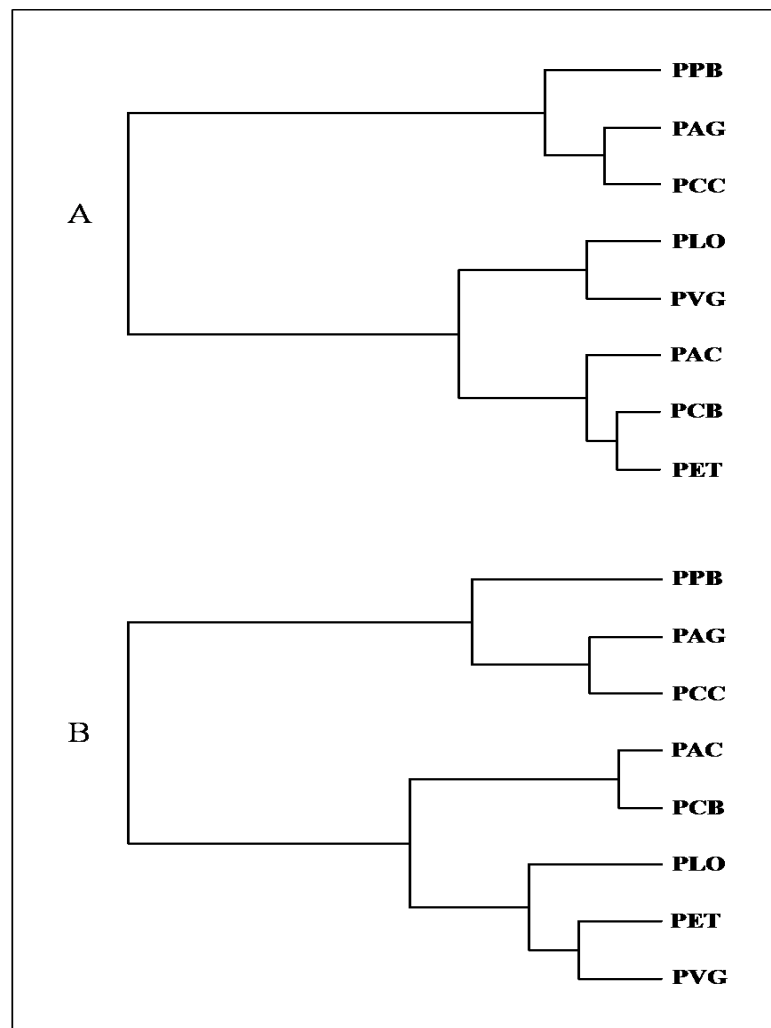
Respecto a la forma en la que las poblaciones se agrupan tanto a nivel morfométrico como biogeográfico, el índice de Rand $c(Y' Y)$ mostró una correspondencia del 85% entre las topologías de ambos tipos de dendrograma (Figura 13), lo cual se puede interpretar como una buena representación de la jerarquía de organización geográfica de las poblaciones, sobre su jerarquía de variación morfométrica. Es decir, poblaciones que por razones geológicas, geográficas o climáticas forman un grupo homogéneo y cohesionado con respecto a otras, comparten entre sí un mayor parecido en cuanto a su morfometría foliar.

En el cladograma biogeográfico o de áreas (Figura 13A) se observan dos grupos generales; el primero compuesto por (PCC-PAG-PPB), perteneciente al complejo de Páramos Sur-Occidental del departamento de Nariño, y el segundo por el resto de poblaciones, las cuales son parte del complejo de Páramos de Centro-Oriental. En el segundo grupo existen dos subdivisiones, la primera formada por (PLO-PVG), que se encuentran en una posición geográfica central, y la segunda por (PET-PAC-PCB), que se sitúan hacia la parte más oriental de la distribución geográfica del todo el grupo de poblaciones. En el cladograma morfométrico (Figura 13B) se generaron los dos grupos generales del cladograma biogeográfico y las dos subdivisiones del grupo de poblaciones del complejo Centro Oriental. Sin embargo, en este caso se presentó una leve desviación, ya que al grupo de poblaciones centrales (PLO-PVG) se unió PET. Esto demostró que aunque

geográficamente PET pertenece a la zona más oriental, comparte mayor similitud morfométrica con las poblaciones de la parte central.

Al igual que lo mostrado en la Figura 10, el cladograma morfométrico no ubicó las poblaciones de referencia de *E. schultesiana* como grupos externos o alejados del resto de poblaciones de *E. pycnophylla*. De hecho, estas formaron un grupo más homogéneo con PET, PLO y PVG, que estas últimas con el grupo occidental de poblaciones de *E. pycnophylla*. Lo anterior contradice la predicción esperada por tratarse de una especie diferente según el tratamiento taxonómico de Cuatrecasas (1986).

Figura 13. A) Dendrograma biogeográfico construido con base en las distancias (β_{IJ}) entre las ocho poblaciones de estudio. B) Dendrograma morfométrico construido con base en la posición de los centroides poblacionales en las dos primeras funciones discriminantes. Ambos dendrogramas fueron calculados utilizando el método de Ward.



5.4 RELACIÓN ENTRE EL TAMAÑO DEL ÁREA DE DISTRIBUCIÓN POBLACIONAL Y LA VARIACIÓN MORFOMÉTRICA INTRAPOBLACIONAL (DENTRO DE POBLACIONES).

Existió una correlación lineal, positiva y significativa entre el tamaño del área de distribución de cada población y su variación morfométrica interna dentro de la primera ($r_s = 0,85$, $p=0,003$), segunda ($r_s = 0,95$, $p < 0,0001$), tercera función discriminantes ($r_s = 0,75$, $p=0,01$), y el área del intervalo de confianza del 95% ($r_s = 0,86$ $p=0,002$) (Figura 14). Tanto los resultados presentados en la Figura 14 como en la Tabla 8 muestran claramente que la varianza morfométrica intrapoblacional de la forma foliar *per se* aumenta significativa y proporcionalmente con el tamaño del área de distribución de cada población. Poblaciones con áreas de distribución comparativamente mayores como PCC y PLO, poseen mayor heterogeneidad en cuanto a formas de foliares; mientras que poblaciones con áreas más reducidas como PET y PPB son mas homogéneas. Los coeficientes de correlación de Sperman (r_s) fueron relativamente altos, exceptuando el de la tercera función discriminante que fue moderado, pero en términos generales indicaron una alta dependencia lineal entre la variación morfométrica foliar y el área de distribución poblacional, considerando la primera como variable dependiente y la segunda como independiente respectivamente.

Tabla 8. Valores descendentes de varianza y tamaño del área de distribución poblacional para cada población estudiada. A partir del coeficiente de variación se asignaron tres categorías de heterogeneidad morfométrica foliar intrapoblacional: Alta, Media y Baja. Se observa claramente una correspondencia de mayores coeficientes de variación y heterogeneidades morfométricas a poblaciones con mayores áreas de distribución y viceversa.

Población	Tamaño del área de distribución poblacional (km ²)	Coefficiente de Variación (%)	Heterogeneidad morfométrica intrapoblacional
PCC	616,4	100%	Alta
PLO	204,1	88%	Alta
PAG	66,32	60%	Media
PCB*	63,35	51%	Media
PVG	32,29	51%	Media
PAC*	31,20	51%	Media
PPB	6,24	47%	Baja
PET	4,99	30%	Baja

* Población referencia de *E. schultesiana*.

El alto coeficiente de variación y su correspondiente elevada heterogeneidad para poblaciones como PCC y PLO, revelan que en estas poblaciones los individuos tienden a generar una mayor variabilidad o mayor cantidad de formas foliares, cuyas diferencias oscilan entre un nivel sutil hasta uno conspicuo. Por ejemplo, fue evidente en estas poblaciones, la presencia de varias hojas de forma atípica, con márgenes ondulados hacia el ápice de las mismas (Figura 15). Por el contrario, en las poblaciones PPB y PET, los coeficientes de variación fueron bajos, las formas foliares fueron homogéneas y no existió una gran cantidad de formas. Por lo general, uno solo tipo de configuración geométrica de la hoja muy similar a la forma foliar promedio de las Figuras 9A y 9B determinó la mayor parte de la muestra. En poblaciones de heterogeneidad media y baja, la variación de la forma foliar *per se* está determinada por la elongación y esfericidad de la hoja, pero a niveles muy sutiles.

Figura 14. Relación entre el tamaño del área poblacional y la variación morfométrica intrapoblacional, medida como la varianza en la A) primera, B) segunda, C) tercera función discriminantes, y D) su intervalo de confianza del 95%. Los datos de área poblacional en Km² fueron transformados a LogN debido a que su progresión fue logarítmica. Las varianzas poblacionales fueron significativamente diferentes en la primera (p = 0,03), segunda (p = 0,02) y tercera función discriminantes (p = 0,0001) según la prueba de Levene. Los valores de varianza están estandarizados respecto a la mayor varianza encontrada, que en este caso fue para PCC (100%)

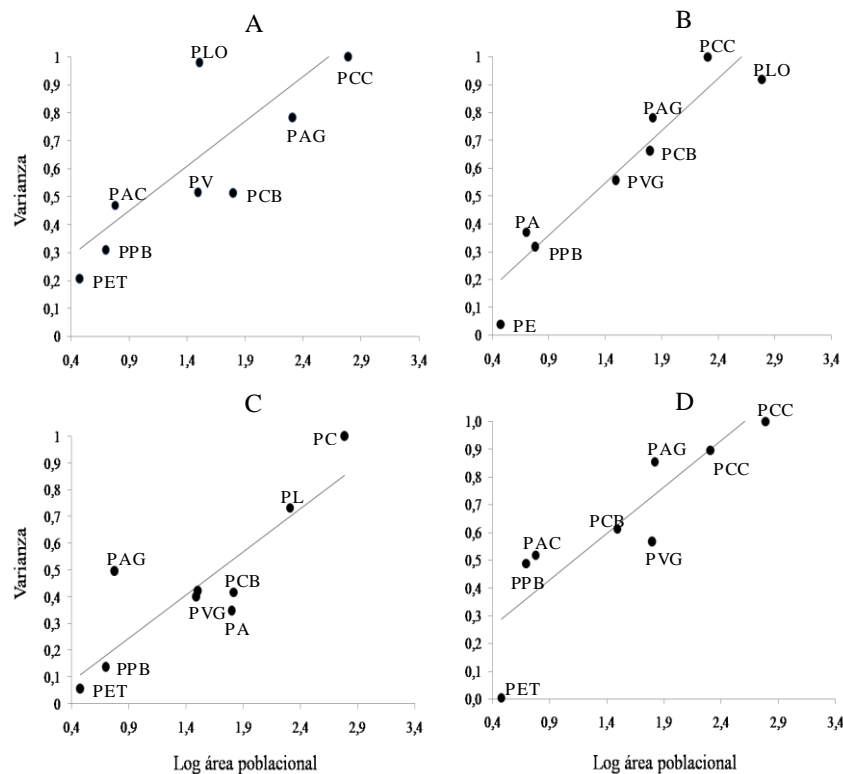
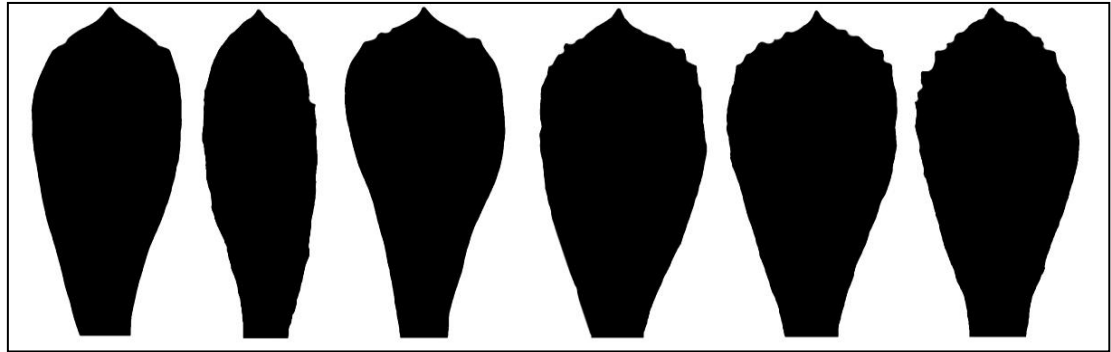


Figura 15. Algunos ejemplos de formas foliares atípicas encontradas únicamente en las poblaciones de alta heterogeneidad morfométrica PCC y PAG.



5.5 COMPARACIÓN ENTRE FORMA FOLIAR Y ÁREA FOLIAR COMO MÉTODO TRADICIONAL

En la tabla 9 se muestran los promedios de área foliar para cada población y su respectiva varianza. Como se puede observar, fueron PAC y PCB las poblaciones con mayor área foliar promedio, mientras que PET y PAG poseyeron las hojas con menor área. Estos datos fueron usados para construir el dendrograma de la Figura 16. La topología de este dendrograma se correspondió escasamente en 67% con la topología del dendrograma morfométrico del AEF (Figura 13B). La prueba de Mantel con 5000 permutaciones mostró que las matrices de distancias euclidianas entre ambos datos no estuvieron significativamente correlacionadas ($r = 0,32$, $p = 0,06$) y que tampoco hay asociación entre distancia geográfica y área foliar ($r = 0,18$, $p = 0,14$). Esto quiere decir que forma *per se* y área foliar son variables que producen patrones diferentes de agrupamiento interpoblacional y por lo tanto no sirven para explicar los mismos fenómenos.

Tabla 9. Promedios y varianzas de área foliar para cada población en orden descendiente.

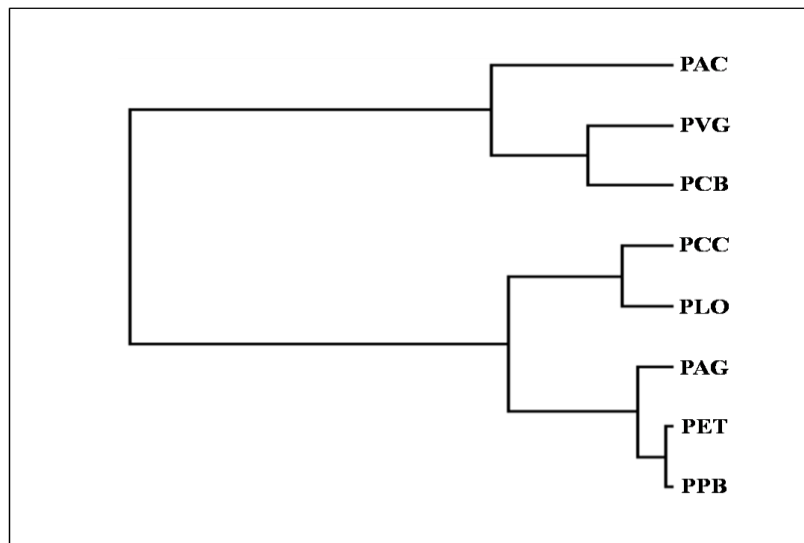
Población	Área foliar promedio (cm ²)	Varianza (cm ²)
PAC*	33,31	10,30
PCB*	29,81	6,44
PVG	26,82	3,54
PLO	24,07	7,14
PCC	22,27	7,43
PPB	20,18	3,41
PET	19,91	3,61

PAG	18,97	3,33
-----	-------	------

* Población referencia de *E. schultesiana*. Todos los datos de área foliar fueron calculados en las mismas hojas utilizadas para el AEF, usando el programa TpsDig2.

Por ejemplo, mientras en el dendrograma morfométrico de la forma foliar *per se* (Figura 13B), los grupos formados fueron (PPB-PAG-PCC), (PAC-PCB) y (PLO-PET-PVG), el área foliar generó una estructura de agrupamientos diferente, la cual difirió en un 43% con respecto al primer método (PAC-PVG-PCB), (PCC-PLO) y (PAG, PET y PPB). Siguiendo este orden de ideas, la forma foliar *per se* reveló que PCC-PAG son el par poblacional con mayor similitud, sin embargo, en el dendrograma de área foliar, estas dos poblaciones son bastante disímiles y aparecen en grupos separados. Lo mismo ocurrió con PET-PVG, PCC-PAG y en general, con toda la estructura del dendrograma.

Figura 16. Dendrograma interpoblacional generado con la variable área foliar como estimativo de *tamaño*, usando el método de Ward.



Otro aspecto resaltante en cuanto a estos resultados, es que ambas poblaciones referencia de *E. schultesiana* PCB y PAC poseyeron áreas foliares significativamente mayores que el resto de poblaciones de *E. pycnophylla*, lo que concuerda con uno de los criterios diagnósticos de la especie descrito por Cuatrecasas (1986).

6. DISCUSIÓN

6.1 VARIACIÓN INTERPOBLACIONAL

Este estudio provee evidencias que prueban cómo la forma foliar en *E. pycnophylla* varía inequívoca, significativa y consistentemente entre poblaciones geográficamente aisladas. Esto significa que la configuración geométrica promedio de las hojas de cada población es única y permite su identificación como un grupo estadístico y biológico de resolución satisfactoria, ya que con el análisis discriminante se logró un 99% de discriminación y clasificación correcta. Fue evidente también la existencia de un espectro de variación (espacio de forma), que mostró una sólida jerarquía de similitud y disimilitud interpoblacional, lo que significa que la varianza encontrada en los datos obedece estrictamente a la forma en la que las poblaciones están configuradas y distribuidas en el espacio geográfico y no a efectos aleatorios. En términos generales, el AEF ha generado resultados similares en otras poblaciones y especies vegetales, y demostrando la eficacia de la forma foliar analizada con esta técnica, como una aproximación eficiente para la distinción de divergencia poblacional, ya que permite aislar el componente tamaño y estudiar por separado la forma *per se* (Rohlf & Archie 1984), que es más apropiada cuando se pretende analizar la variación heredable como prioridad sobre la ambiental (Dickinson *et al* 1987). Por lo contrario, el tamaño está más sujeto a la plasticidad fenotípica, a condiciones ambientes contrastantes y generalmente produce agrupamientos interpoblacionales disímiles y no correlacionados con los de la forma *per se*.

Este patrón ha sido verificado en diferentes especies de plantas. Por ejemplo, Olsson *et al* (2000) reportaron varios estudios en los que los CEF representan un componente significativo de heredabilidad en varios taxones vegetales y Molau & Prentice (1992) encontraron que en tres especies de *Saxifraga*, la variación en la forma foliar *per se* debida los efectos ambientales es menor al 1%, mientras que aquella relacionada con el componente genético es mayor al 99%. Otros estudios que han usado el AEF de la forma foliar y marcadores moleculares conjuntamente con el objetivo de analizar las relaciones entre grupos de poblaciones geográficamente aisladas, han encontrado que ambos tipos de datos se correlacionan y producen agrupamientos estadísticos similares, jerarquías de variación afines y relaciones equivalentes de similitud y disimilitud interpoblacional. Lönn & Prentice (1995) lo demostraron en *Hippocrepis emerus* usando 12 aloenzimas; Olsson *et al* (2000) en *Rosa* con RAPD's, Jensen *et al* (2002^b) en *Myrceugenia fernandeziana* con seis aloenzimas y Rumpunen & Bartish (2002) en *Chaenomeles* con RAPD's.

Inclusive, en algunos estudios se ha encontrado que individuos para los que el Análisis Elíptico de Fourier ha revelado Coeficientes Elípticos de Fourier parecidos para alguna estructura morfométrica, tienen genotipos similares y que especies híbridas con genotipos intermedios poseen Coeficientes Elípticos de Fourier cuantitativamente intermedios con respecto a las especies parentales (Jensen *et al* 2002^a). Esto no ha sido único en plantas, sino que también ha emergido notablemente en estructuras animales (Ferson *et al* 1985; Garnier *et al* 2005).

Lewontin (1984) sugiere cuidadosamente, que una correlación estadística entre datos morfométricos y genéticos no necesariamente implica una correspondencia directa genotipo-fenotipo, o sea que los CEF y las formas que estos describen, no pueden ser atribuidas a los marcadores moleculares usados en un estudio determinado, porque es posible que estos no tengan nada que ver con el control genético de las primeras. Sin embargo, lo que la evidencia disponible sí permite precisar, es que si ambas aproximaciones muestran relaciones interpoblacionales similares, entonces el AEF puede ser utilizado como una alternativa poderosa de estimación indirecta de variación genética y divergencia poblacional. En este sentido, Molau & Prentice (1992) proponen al análisis de la forma foliar *per se* como un marcador muy efectivo para hacer evaluaciones rápidas de variación genética entre y dentro de poblaciones de plantas. Lewontin (1984) hace incluso la predicción de que bajo ciertas condiciones, los caracteres métricos son descriptores más sensibles que un locus individual para analizar la diferenciación interpoblacional.

Esto ha sido comprobado en *Plantago lanceolata* (Wolff 1991), algunas especies del género *Rosa* (Olsson *et al* 2000) y en mariposas del género *Lycaeides* (Nice & Shapiro 1999). La razón es que la forma *per se* de las estructuras biológicas está controlada por la acción concomitante de muchos genes, tal como se ha reportado en especies como *Oriza sativa* (Gui-zhi *et al* 2007) y *Gossypium hirsutum* (Jiang *et al* 2000), en las que la morfología foliar está bajo el control de loci de rasgos cuantitativos (QTL's). En este contexto, proponemos que las diferencias inter e intrapoblacionales encontradas en *E. pycnophylla* pueden poseer un importante componente genético, que nos permite inferir aspectos claves sobre su biogeografía histórica y ecológica. Es posible que en *Espeletia pycnophylla* se presente un fenómeno similar, sin embargo aun hace falta realizar estudios de variación interpoblacional con marcadores moleculares que permitan corroborarlo. Aunque el enfoque de esta investigación no nos permite deducir inequívocamente los mecanismos que han sido responsables de la diferenciación entre poblaciones, ni ponderar la magnitud de su importancia, Brown & Lomolino (1998) mencionan al respecto que la selección y la deriva son fuerzas que en estos casos juegan un papel importante, lo que podría ocurrir posiblemente con *E. pycnophylla*.

El tamaño de la hoja es una de las primeras respuestas selectivas en poblaciones vegetales sometidas a cambios ambientales, y por lo tanto, la selección pudo haber sido una posible fuerza de divergencia entre las poblaciones de *E. pycnophylla*, dadas las contrastantes condiciones ambientales de sus hábitats de distribución. Por ejemplo, los dos grupos de poblaciones principales formados en la Figura 13A (PCC – PAG - PPB) y (PVG – PLO – PET – PAC – PCB), están sometidas a condiciones climáticas diferentes. Mientras el primero tiene una ubicación suroccidental y recibe corrientes de aire y precipitaciones del Océano Pacífico, el segundo se localiza al oriente y está afectado por condiciones de humedad de influencia amazónica (Solarte *et al* 2007). Esto implica la presencia de un conjunto particular de variables ambientales como geomorfología, suelos y disponibilidad hídrica que pueden estar influyendo diferencialmente sobre cada población. Por ejemplo, la menor área foliar de las poblaciones occidentales (PCC-PAG-PPB) puede estar relacionada con una adaptación a los suelos arenosos y a la reducida disponibilidad de agua, que es un 56% menor que en las poblaciones orientales, donde la precipitación alcanza los 2150 mm anuales (Solarte *et al* 2007). En contraste, los individuos de estas poblaciones orientales (PAC-PCB) que incluso llegan a ser muy húmedas según los criterios de Holdridge, tienen un área foliar 46% más grande. Una posible explicación al respecto es por lo tanto, que la menor área foliar de plantas de poblaciones con baja disponibilidad de agua, es una adaptación para controlar la desecación de tejidos por evapotranspiración. Esta es una respuesta típica de las plantas frente a este tipo de condiciones y un ejemplo recurrente de casos de selección (Greenwood *et al* 2004, Greenwood 2005). Sin embargo, la deriva genética es también una explicación verosímil, ya que pudo haber jugado un papel importante, sobre todo en poblaciones pequeñas. Esta es una poderosa influencia sobre la divergencia interpoblacional, ya que si la forma *per se* está controlada por la acción sinérgica de muchos genes, una cantidad pequeña que sea neutral podría ser suficiente para menoscabar la acción de las fuerzas selectivas (Lönn & Prentice 1995; Jensen *et al* 2002; Garnier *et al* 2005).

No obstante, lo que los resultados obtenidos permiten deducir con más seguridad, que el aislamiento geográfico es un factor que puede direccionar los efectos de las fuerzas evolutivas implicadas y facilitar la divergencia entre poblaciones. La teoría alopátrica de Mayr (1964) explica satisfactoriamente este proceso y atribuye a las barreras geográficas que segregan poblaciones la responsabilidad de causar un flujo genético truncado, lo que promueve la aparición de divergencia y heterogeneidad interpoblacional. En el caso de *E. pycnophylla*, la aparición de barreras físicas que fragmentaron una población ancestral está perfectamente sustentada en los descubrimientos paleogeográficos (Anexo 1) y nos permite hablar de un proceso de divergencia en el sentido de que las poblaciones actuales proceden o divergen de una ancestral.

Loveless & Hamrick (1984) recopilan una buena cantidad de evidencia sobre casos de divergencia interpoblacional en diferentes especies vegetales con rangos de distribución disyuntos. Según estos autores, existen cuatro determinantes ecológicos que potencializan este fenómeno: 1) semillas carentes de mecanismos de dispersión anemócora y/o ornitócora, aquellas que generalmente caen y germinan por gravedad cerca de las plantas madre; 2) polinización entomófila (especialmente por insectos pequeños), que implica un movimiento de polen limitado; 3) patrones de distribución espacial agregados, que aumentan el aislamiento y 4) baja capacidad de dispersión, ya que los espacios entre poblaciones pueden ser barreras para el flujo genético.

E. pycnophylla se ajusta perfectamente a estos cuatro condicionantes. Aunque sus plantas adultas producen abundantes semillas, éstas carecen de pappus, la estructura especializada para la dispersión por viento (Cuatrecasas 1986); su polinización está posiblemente mediada por insectos pequeños como *Bombus sp* y algunos dípteros y coleópteros (obs. pers); su patrón de distribución espacial es agregado (Benavides *et al* 2007) y, como se observa en los análisis geográficos y paleogeográficos (Anexo 1), las poblaciones actuales están sujetas a un pronunciado aislamiento por diferentes barreras físicas, lo que acentúa la limitada dispersión de sus semillas. Los anteriores factores pueden ayudar explicar la considerable divergencia interpoblacional encontrada en esta especie.

6.2 RELACIÓN ENTRE VARIACIÓN MORFOMÉTRICA, DISTANCIA GEOGRÁFICA Y PATRONES PALEOGEOGRÁFICOS DE FRAGMENTACIÓN DE AREAS DE DISTRIBUCIÓN (ANEXO 1) ¿EVIDENCIAS DE VICARIANZA?

La implicación más importante de la correlación existente entre las matrices de distancias morfométricas y biogeográficas, es que la variación interpoblacional de la forma foliar *per se* no responde al azar, sino que está determinada lineal y positivamente por el aislamiento geográfico. Este es un patrón muy reportado en poblaciones de diferentes especies vegetales, tanto a nivel de caracteres moleculares como morfológicos (Lönn & Prentice 1995; Brunell & Whitkus 1997, Jenssen *et al* 2002^a; Jenssen *et al* 2002^b; Rumpunen & Bartish 2002). La explicación más usual en la mayoría de estos casos alude a los procesos involucrados con el flujo reproductivo entre poblaciones y a las barreras geográficas que las limitan, especialmente en plantas con baja capacidad de dispersión y polinización a gran escala. En el caso de *E. pycnophylla*, es posible que pares de poblaciones geográficamente cercanas como PLO-PAC, PCC-PVG, PET-PCB y PCB-PAC, en las que el distanciamiento mínimo no supera los 6 km, y que pudiese no representar barreras infranqueables para sus polinizadores, tengan mayor facilidad de intercambio polínico que poblaciones lejanas como PCC-PCB, ubicadas en flancos opuestos de los Andes Nariñenses, y además,

segregadas por el cañón del río Guaitara; una fuerte barrera física que imposibilita su contacto y el entrecruzamiento de sus individuos.

No obstante, en adición a la relación morfometría-geografía, también se detectó una fuerte asociación entre la divergencia morfométrica interpoblacional y los procesos paleogeográficos de fragmentación de las áreas de distribución de las ocho poblaciones (ver Anexo). Esta correlación sugiere que el tiempo de contacto entre poblaciones es un factor determinante sobre su similitud o disimilitud morfométrica. Poblaciones como PCB, PAC, PET y PLO, que quedaron aisladas en los últimos eventos de fragmentación, pudieron haber tenido un tiempo más prolongado de contacto físico y flujo genético que poblaciones como PCC y PCB, que se fragmentaron en la primera etapa del proceso, y cuyo flujo genético puede haber estado truncado por un tiempo más prolongado. Lo anterior permite deducir que la actual divergencia morfométrica y distribución espacial de poblaciones de *E. pycnophylla*, son un posible resultado de una serie de eventos de vicarianza que ocurrieron durante el Holoceno, lo que es consistente con los fenómenos de expansión y contracción de rango geográfico, que han sido causa de oscilantes eventos de vicarianza para la biota paramuna (Simpson 1971; Cuatrecasas 1986; Rauscher 2002). Este hallazgo se sustenta en dos aforismos básicos de la biogeografía vicariancista propuestos por Willey (1998): 1) La congruencia observada entre los patrones filogenéticos y biogeográficos de los miembros de dos o más grupos es una evidencia para hipotetizar que ellos comparten una historia común; y 2) La mayoría de tales correlaciones (Congruencia entre patrones filogenéticos y biogeográficos) implica que la mayor probabilidad de esta congruencia de patrones se debe a una historia común.

6.3 POSIBLES EXPLICACIONES A LAS CORRELACIONES ENCONTRADAS

Schaal *et al* (1991) proponen que la estructura de variación interpoblacional no solo está determinada por las fuerzas actuales de flujo genético, sino también por sus relaciones históricas (ver Anexo). Para un nivel dado de flujo genético actual, las poblaciones que tienen un ancestro común reciente serán más similares que aquellas que poseen un ancestro común más distante. En conclusión, si el flujo genético entre dos poblaciones cesa al mismo tiempo, el poseer un ancestro común va a ser el único determinante de su similitud. Por lo tanto, las relaciones históricas contribuirán en alguna medida a la estructuración de relaciones morfométricas interpoblacionales.

En esta investigación han emergido dos hipótesis que explican la estructura de la variación morfométrica entre las ocho poblaciones de *E. pycnophylla*, una relacionada con un posible flujo genético actual, y otra concerniente a los patrones de flujo históricos, ambas aparentemente viables. No obstante, Schaal *et al* (1998) proponen dos predicciones de la filogeografía vegetal, que nos hacen optar por la segunda opción como la más verosímil: 1)

En especies donde el intercambio genético es limitado debido a una distribución geográfica disyunta o a una dispersión y/o polinización restringidas, los eventos históricos como la expansión, fragmentación de rango y cuellos de botella, serán fuertes determinantes de la estructura de variación interpoblacional. La similitud observada entre este tipo de poblaciones se debe más a la presencia de un ancestro común que a procesos actuales de intercambio genético. 2) La congruencia entre las relaciones genéticas y geográficas de un grupo de poblaciones se debe a que son el resultado de un flujo de genes actual altamente restringido. *E. pycnophylla* se ajusta a ambas situaciones, y por tal razón es muy posible que la mayor parte de la estructura de variación, similitud y disimilitud morfométrica entre las ocho poblaciones estudiadas, sea debida a los procesos paleogeográficos graduales, secuenciales y jerárquicos de fragmentación de áreas de distribución, que determinaron diferentes tiempos de contacto entre diferentes poblaciones actualmente aisladas, y que subsecuentemente cortaron la continuidad de su entrecruzamiento reproductivo en diferentes escalas temporales. El flujo génico actual podría estar actuando solamente entre poblaciones cercanas, ya que las barreras físicas que impone la compleja geomorfología de la zona distorsiona las corrientes de aire más o menos lineales provenientes de la Amazonía y el Pacífico y restringe la anemofilia y entomofilia.

6.4 RELACIÓN ENTRE TAMAÑO DEL ÁREA POBLACIONAL Y VARIACIÓN MORFOMÉTRICA INTRAPOBLACIONAL

Los resultados encontrados en este aspecto concuerdan en buena medida con una de las predicciones teóricas básicas de la genética de poblaciones, que establece que los niveles de variación genética y/o fenotípica incrementan con el tamaño efectivo de las poblaciones y/o con la magnitud de sus áreas de distribución (Soulé 1976). Esto ha sido corroborado empíricamente en especies como *Scabiosa columbaria* y *Salvia pratensis* (Ouborg *et al.* 1991; van Treuren *et al.* 1991; Ellstrand & Ellam 1993).

Las correlaciones lineales encontradas para el caso de *E. pycnophylla* fueron altas y significativas, demostrando que el tamaño del área de distribución de sus poblaciones es un factor determinante sobre el grado de heterogeneidad morfométrica que puede haber al interior de cada una. Aunque no hay muchos estudios que relacionen específicamente estas dos variables usando el Análisis Elíptico de Fourier foliarr, Lönn & Prentice (1995) no encontraron dicha relación en *Hippocrepis emerus*, lo que posiblemente se debe a que la marginalidad geográfica de sus poblaciones ejerce un impacto mayor sobre la estructura genética y fenotípica que el mismo tamaño poblacional. Sin embargo, Frankham (1996) propone que la variación fenotípica refleja en muchos casos la variación genética al interior de las poblaciones, y Falconer y Mackay (1996) predicen que la acción genética aditiva para caracteres cuantitativos deberá decrecer con el tamaño poblacional, ya que ésta es

proporcional a su variabilidad. En el caso de *E. pycnophylla*, una mayor área de distribución puede significar un mayor número de microhábitats, un mayor número de individuos, un tamaño efectivo incrementado y, si la variación en la forma foliar *per se* responde a un importante componente genético, también podría representar un mayor número de recombinaciones y por lo tanto, una mayor estabilidad. En este sentido, el hecho de que poblaciones de áreas reducidas como PET y PPB hayan poseído la más escasa variación intrapoblacional, sugiere que durante el proceso histórico de fragmentación y reducción de sus áreas geográficas, han podido estar sujetas a fuerte divergencia por deriva. El caso contrario son poblaciones como PCC, PLO y PAG, con áreas relativamente grandes y una heterogeneidad morfométrica significativamente mayor. Actualmente hay una buena cantidad de evidencia que prueba que la deriva genética es una fuerza preponderante en poblaciones pequeñas (Loveless & Hamrick 1984; Ougborg *et al.* 1991; Ellstrand & Ellam 1993; Lönn & Prentice 1995; Brown & Lomolino 1998).

6.5 ¿ES *Espeletia schultesiana* UNA ESPECIE DIFERENTE?

Las dos poblaciones de *E. schultesiana* (PAC y PCB) escogidas en esta investigación, tenían el objetivo de servir como *outgroups* o grupos de referencia en cuanto a la variación en la forma y tamaño foliar de *E. pycnophylla*. Sin embargo, ninguno de los análisis realizados mostró la separación estadística que se esperaba entre ambos grupos por el hecho de pertenecer a especies diferentes. De hecho, la Figura 10A muestra a PCC y PAG (poblaciones occidentales de *E. pycnophylla*) como los grupos más alejados en el espacio de forma, mientras que las dos poblaciones de *E. schultesiana* se ubican más cercanas a otras de *E. pycnophylla*.

Cuatrecasas (1986) diferenció y clasificó a *E. schultesiana* por el tamaño de sus hojas, un carácter netamente tipológico abordado desde la taxonomía tradicional, y utilizó pocos tipos nomenclaturales para su descripción. Esta aproximación, aunque es la más difundida entre los taxónomos, no tiene en cuenta parámetros estadísticos de cada grupo. Por el contrario, los resultados de esta investigación poseen un enfoque estadístico, basados en tamaños muestrales de 80-90 individuos por población, lo que permite inferir parámetros poblacionales y generar conclusiones con un nivel de confianza superior al 95% sobre las relaciones de similitud y disimilitud entre las poblaciones de ambas especies.

Por otra parte, los estimativos paleogeográficos (ver Anexo) sugieren que las áreas que hoy pertenecen a *E. schultesiana*, estuvieron unidas a *E. pycnophylla* en un pasado relativamente reciente, y solamente se aislaron el último evento de fragmentación. Por lo tanto, PAC y PCB tuvieron un periodo de contacto relativamente prolongado con otras áreas de *E. pycnophylla*, y de hecho, fueron PCC, PAG y PPB las primeras poblaciones en

quedar separadas desde el inicio del proceso de vicarianza. Ahora, teniendo en cuenta que estas plantas poseen un ciclo de vida largo, solapamiento de clases de edad (Baruch 1979, Smith 1981), y que sus generaciones no se relevan rápidamente, es difícil probar que haya ocurrido un evento de especiación como lo sugiere Cuatrecasas (1986), ya que la única prueba definitiva sería la hibridación y detección de descendencia fértil en varias generaciones. Aunque nuestros resultados no nos permiten responder inequívocamente si *E. pycnophylla* y *E. schultesiana* son o no especies diferentes -según el concepto biológico y no tipológico de especie-, si sugieren que lo más verosímil es que se trate de una misma especie, sujeta a las ya comprobadas variaciones geográficas.

6.6 APORTES HACIA UNA DIAGNOSIS Y CONSERVACIÓN DE ZONAS DE PÁRAMO Y POBLACIONES DE *E. PYCNOPHYLLA* POTENCIALMENTE EN RIESGO

La alta correlación encontrada entre el tamaño del área de distribución y la variabilidad morfométrica de las ocho poblaciones estudiadas permite identificar tres categorías poblacionales, que pueden ser tenidas en cuenta para propósitos de priorización de áreas, diagnóstico y conservación en los Páramos del departamento de Nariño: 1) Poblaciones extensas con una alta variación morfométrica (PCC y PLO), que podrían tener la mayor estabilidad genética y demográfica; 2) Poblaciones con extensiones geográficas y variación morfométrica intermedia como (PAG, PCB, PVG y PAC) y 3) Poblaciones de extensión geográfica y variación morfométrica reducidas (PPB y PET), que poseen 6,24 y 5 km² de área de distribución respectivamente. Según la *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) estos tamaños de área de distribución hace que estas poblaciones entren en el criterio de vulnerables (VU). Según Bijlsma *et al* (1994) este tipo de poblaciones poseen un mayor riesgo de endogamia, erosión genética y extinción local. Por si solos, estos criterios no tienen una interpretación pragmática dentro de la biología de la conservación, pero su aplicabilidad podría resultar muy eficiente si son analizados conjuntamente con variables como la riqueza de especies, cantidad de endemismos, producción primaria, retención y aporte a hídrico a cuencas hidrográficas, captura de carbono, asentamientos humanos y las amenazas a las que cada páramo está sometido (ampliación de la frontera agrícola, la caza y la extracción indiscriminada de madera y carbón).

Datos no publicados muestran que la cobertura de los Páramos nariñenses ha disminuido en un 7,76% en solo 21 años, como respuesta al calentamiento global y otras presiones antrópicas, lo que reafirma la grave situación a corto, mediano y largo plazo que sufren las poblaciones de *E. pycnophylla*, y toda la biota paramuna. Además, un estudio realizado por Diazgranados & Barber (2009) sugiere que dentro de 40 años el área de distribución de *E. pycnophylla* podría reducirse en otro 25%. Aun se necesitan estudios cuantitativos

detallados sobre la capacidad de retención hídrica y captura de carbono por parte de los Frailejones y otras especies vegetales, que permitan cuantificar los efectos perjudiciales que causaría la futura reducción de sus tamaños poblacionales. Por lo pronto, la mejor estrategia de conservar la especie y su variación intra e interpoblacional, es preservar una gran proporción de poblaciones nativas, y un número grande de individuos de varias clases de edad dentro de cada una, según lo propuesto por Jensen *et al* (2002^b).

7. CONCLUSIONES

1. Existe divergencia morfométrica entre poblaciones de *E. pycnophylla* sujetas a aislamiento geográfico.
2. Existe una fuerte relación entre distancia geográfica y divergencia morfométrica interpoblacional en *E. pycnophylla*. Mayores distancias geográficas se corresponden con niveles más altos de divergencias morfométricas y viceversa.
3. Existe una fuerte relación entre la variación morfométrica intrapoblacional y el tamaño del área poblacional en *E. pycnophylla*. Poblaciones con mayor extensión geográfica poseen una mayor variación morfométrica que poblaciones con áreas relativamente reducidas.
4. Actualmente las poblaciones de *E. pycnophylla* del Páramo el Tábano y la del Páramo de Paja Blanca, podrían estar amenazadas a sufrir extinciones locales. Esto debido a su baja variabilidad interna y/o áreas de distribución reducidas.
5. Los patrones paleogeográficos de fragmentación y reducción de áreas de distribución en *E. pycnophylla* están correlacionados con sus patrones de divergencia morfométrica interpoblacional.
6. Otros posibles factores de la divergencia morfométrica encontrada a nivel interpoblacional son los contrastes climáticos, geográficos y geológicos a los que están sometida las poblaciones, los cuales son causantes de plasticidad fenotípica.

8. RECOMENDACIONES

1. Incluir poblaciones del norte del departamento de Nariño (Volcán Doña Juana, Volcán Animas, Volcán Petacas, Cerro Juanoy). Estas zonas están sujetas a diferentes condiciones de aislamiento geográfico, clima, geomorfología y suelos, lo que posiblemente implicaría la existencia de variación interpoblacional mayor aun a la encontrada en esta investigación.
2. Muestrear varios puntos alejados dentro de cada población. Esto permitiría evaluar la variación dentro de una población en sitios extremos y determinar si esta es comparable en magnitud a la encontrada en esta investigación entre distintas poblaciones aisladas geográficamente.
3. Someter a prueba la hipótesis de vicarianza en *E. pycnophylla* mediante el uso de diferentes marcadores moleculares, que permitan corroborar y complementar los resultados obtenidos en esta investigación.
4. El modelo paleo-biogeográfico propuesto en este trabajo abre un campo de investigación que provee un marco conceptual en el que se podrían probar hipótesis biogeográficas para diferentes organismos de los Páramos de Nariño. La recopilación de datos a partir de diferentes métodos y especies ayudará a fortalecer, complementar o refutar el modelo.
5. La identificación de poblaciones amenazadas según los criterios de baja variabilidad interna y/o áreas de distribución reducidas, es un aspecto que debe ser tenido en cuenta junto a otras variables bióticas y abióticas paramunas, para la priorización de áreas de conservación en los Páramos de Nariño.
6. La congruencia entre los análisis de divergencia inter-poblacional y fragmentación histórica del área de distribución geográfica de *E. pycnophylla*, sugiere un escenario de eventos continuos de vicarianza que posiblemente determinaron el estatus actual de esta especie en los Páramos del departamento de Nariño. Además, la divergencia interpoblacional encontrada puede ser uno de los efectos de la fragmentación del área de distribución geográfica de la especie, que a su vez ocasionó la pérdida un flujo genético continuo. Esto podría ser corroborado con el uso de marcadores moleculares en el contexto teórico que propone el campo de la filogeografía vegetal (Schaal *et al* 1998).
7. Muestrear sitios con diferentes condiciones de microhábitat dentro de cada población, tales como humedad del suelo, inclinación, pendiente, elevación, orientación cardinal,

características fisicoquímicas del suelo etc. Esto, junto al uso de marcadores moleculares específicos podría ayudar a determinar qué componentes de la morfometría foliar descritos con el Análisis Elíptico de Fourier son debidos a la herencia o la plasticidad fenotípica.

BLIBLIOGRAFÍA

- ABRAIRA, V. & PEREZ DE VARGAS LUQUE, A. 1996. *Métodos Multivariantes en Bioestadística*. Editorial Centro de Estudios Ramón Areces, S.A
- BARRET, S. C. H. & J. R. KOHN. 1991. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: Implications for conservation. En: Falk, D. A. & K. E. Holsinger (Eds.) *Genetics and conservation of rare plants*. Oxford Univ. Press, Oxford, pp. 123-134
- BARUCH, Z., & A. P. SMITH 1979. Morphological and Physiological Correlates of Niche Breadth in Two Species of *Espeletia* (Compositae) in the Venezuelan Andes. *Oecologia*, 38:71-82.
- BENAVIDES, I. F., D. L. BURBANO., S. M. URBANO. & M. E. SOLARTE. 2007. Efecto del gradiente altitudinal sobre aspectos autoecológicos de *Espeletia pycnophylla* ssp. *angelensis* Cuatrec. (Asteraceae) en el Páramo El Infiernillo (Nariño), Colombia. *Actualidades Biológicas* 29(86): 41-53.
- BENAVIDES. I. F., J. E. BURBANO., D. L. BURBANO., R. PRIETO., & C. A. TORRES. 2010. Inferring posible population divergence in *Espeletia pycnophylla* (Asteraceae) trough morphometric and paleogeographic approaches. *Rev. Biol. Trop.* 58(4) (in press).
- BERRY, P. E., & R. N. CALVO. 1994. An overview of the reproductive biology of *Espeletia* (Asteraceae) in the Venezuelan Andes. In: Rundel, W. P., Smith, A.P. & F. C. Meinzer. *Tropical Alpine environments*, (Eds.). Cambridge University Press. Great Britain.
- BLJLSMA R, OUBORG NJ, AND VAN TREUREN R, 1994. On genetic erosion and population extinction in plants: a case study In *Scabiosa columbaria* and *Salvia pratensis*. In: Conservation genetics (Loeschke V, Tomluk J, and Jain SK, eds). Basel, Switzerland: Blrkhusen 255-271.
- BROWN, J. H AND LOMOLINO, M.V. 1998. *Biogeography*. 2nd ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA, U.S.A.
- BRUNELL, M.S. & R. WHITKUS. 1997. Patterns of morphological variation in *Eriastrum densifolium* (Polemoniaceae). Supplement to *Am. J. Bot.* 80(6):134.
- CANNON, C. H. & P. S. MANOS 2001. Combining and Comparing Morphometric Shape Descriptors with a Molecular Phylogeny: The Case of Fruit Type Evolution in Bornean *Lithocarpus* (Fagaceae) *Systematic Biology*. 5(6): 860-880.

- CARLQUIST, S. 1974. *Island Biology*. New York, Columbia University Press.
- CHRISTOPHER, R. A. & J. A. WATERS. 1974. Fourier series as a quantitative descriptor of miospore shape. *Journal of paleontology*. 48(4): 697-709.
- CHUVIECO, E. 1996. Fundamentos de Teledetección Espacial. Ediciones RIALP, S.A. Segunda edición, Madrid.
- CLEEF, A. M. 1980. La posición fitogeográfica de la flora vascular del páramo neotropical. *Revista del Instituto Geográfico Agustín Codazzi*. 7:68 – 66.
- CRAWFORD, T J. 1984. What is a population? In Shorrocks, B. (ed.) *Evolutionary Ecology*, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- CUATRECASAS, J. 1958. Aspectos de la vegetación natural de Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas Físicas y Naturales*. 10(40): 221- 268.
- CUATRECASAS, J. 1976. A new subtribe in the Heliantheae (Compositae): Espeletiinae. *Phytologia* 35(1): 43-61.
- CUATRECASAS, J. 1986. Speciation and radiation of the Espeletiinae in the Andes. En: F. Vuilleumier and M. Monasterio (Eds.), *High altitude tropical biogeography*, 276-303. Oxford University Press, New York, USA.
- DIAZGRANADOS, M. & J. C. BARBER 2009. Cambio Climático y Predicciones de Distribución Geográfica Futura de Frailejones (Heliantheae: Subtribu Espeletiinae, Asteraceae). *Libro de resúmenes del V Congreso Colombiano de Botánica*. San Juan de Pasto, 19 al 24 de Abril de 2009.
- DICKINSON, T. A., PARKER, W. H & R. E. STRAUSS. 1987. Another approach to leaf shape comparisons. *Taxon*. 36(1): 1-20.
- ELLSTRAND, N. C. & D.R. ELAM. 1993. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annu. Rev. Ecol. Systemat.* 24: 217-242.
- FALCONER, D. S. & MACKAY T. F. C. 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*. Fourth edition. Addison Wesley Longman, Harlow, Essex, UK.
- FERSON, S., ROHLF, F. J & KOEHN R. K, 1985. Measuring shape variation of two-dimensional outlines. *Syst Zool.* 34:59-68
- FIGUERAS, S M (2000). *Introducción al Análisis Multivariante*. [en línea] 5campus.com. Estadística <<http://www.5campus.com/leccion/anamul>>

- FRANKHAM, R. 1996. Relationship of genetic variation to population size in wildlife. *Conservat. Biol.* 10: 1500-1508.
- GARNIER, S., F. MAGNIEZ-JANNIN, J.-Y. RASPLUS, AND P. ALIBERT. 2005. When morphometry meets genetics: inferring the phylogeography of *Carabus solieri* using Fourier analyses of pronotum and male genitalia. *J. Evol. Biol.* 18: 269–280.
- GIVNISH, T. J. 1997. Adaptive radiation and molecular systematics: issues and approaches, pp.1-54, in *Molecular Evolution and Adaptive Radiation*, edited by T.J.Givnish and K. J. Sytsma, Cambridge University Press, Cambridge, England.
- GONZALES, M. S., URBANO, S. M & M. PIANDA. 2009. Patrones de biología reproductiva de *Espeletia pycnophylla*, *Puya clava-herculis* y *Puya cryptantha* en dos áreas paramunas con diferencias ambientales y de intervención antrópica en el departamento de Nariño. Pasto, Nariño, Colombia. Memorias del II Congreso Mundial de Páramos, Paramundi. Loja, Ecuador.
- GRAHAM, H., SILVA, N., & J. VELÁSQUEZ-TIBATÁ 2010. Evaluating the potential causes of range limits of birds of the Colombian Andes. *Journal of Biogeography* (in press).
- GREENWOOD, D.R., WILF, P., WING, S.L. & CHRISTOPHEL, D.C. 2004. Paleotemperature estimates using leaf margin analysis: Is Australia different? *PALAIOS*. 19(2): 129 – 142.
- GREENWOOD, D.R. 2005. Leaf form and the reconstruction of past climates. *New Phytologist*. 166(2): 355 – 357.
- GUHL, E. 1995. Los páramos circundantes de la sabana de Bogotá. Bogotá: Fondo FEN. pp.127.
- GUI-ZHI, F., YAN-JUN, D., CHUN-MING, W., JIAN-MIN, W., HUI, X., CHANG-LIANG, X., JIAN-GUO, Z & QING-SHENG, C. 2007. Analysis of QTLs for Flag Leaf Shape and Its Response to Elevated CO₂ in Rice (*Oryza sativa*). *Rice Science*. 14(1): 7-12.
- HAINES, A.J.; CRAMPTON, J.S.; 2000. Improvements to the method of Fourier shape analysis as applied in biometric studies. *Palaeontology* 43: 765-783.
- HAMER, Ø. & HARPER, D. A. T. 2009. PAST ver 1.98. Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologica electronic* 4(1): 9 pp.

HEDBERG, O. 1964. Features of Afroalpine plant ecology. *Acta Phytogeográfica Suecica* 49: 1-144.

ISAEV, M. A. & L. N. DENISOVA. 1995. The computer programs for shape analysis of plant leaves, proceedings of the Mathematics. Computer. Education. International conference, Pushchino, Russia.

JENSEN, R. J., CIOFANI, K. M. & L. C. MIRAMONTES. 2002^a. Lines, outlines, and landmarks: morphometric analices of leaves of *Acer rubrum*, *Acer saccharinum* (Aceraceae) and their hybrid. *Taxon*. 51: 475-492.

JENSEN, R. J., SCHWOYER, M., CRAWFORD, D. J., STUESSY, T. F., ANDERSON, G. J., BAEZA, C. M., SILVA, M & E. RUIZ. 2002^b. Patterns of morphological and genetic variation among populations of *Myrceugenia fernandeziana* (Myrtaceae) on Masatierra Island: implications for conservation. *Syst. Bot.* 27: 534-547.

JIANG, C., WRIGHT, R. J., WOO, S. S., DELMONTE, T. A & PATERSON, A. H. 2000. QTL analysis of leaf morphology in tetraploid *Gossypium* (cotton). *Theor Appl Genet.* 100: 409-418.

JORGENSEN, P. M. & S. LEÓN-YANES. 1999. *Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador*. Missouri Botanical Garden Press, St Louis.

KAESLER, R. L. & J. A. WATERS. 1972. Fourier analysis of the ostracode margin. *Geol. Soc. Amer. Bull.* 83(4): 1169-1178.

KINCAID, D. T., & R. B. SCHNEIDER. 1983. Quantification of leaf shape with a microcomputer and Fourier transform. *Canadian Journal of Botany* 61: 2333-2342.

KINCAID, D. T., P. J. ANDERSON. & S. A. MORI. 1998. Leaf variation in a tree of *Pourouma tomentosa* (Cecropiaceae) in French Guiana. *Brittonia*, 50(3): 324-338.

KNOX, E. B & PALMER. 1995. Chloroplast DNA variation and the recent radiation of the giant senecios (Asteraceae) on the tall mountains of eastern Africa. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 10349-10353.

KUHL, F. P., & C. R. GIARDINA. 1982. Elliptic Fourier features of a closed contour. *Computer Graphics and Image Processing.* 18:236-258.

- LAEGARD, S. 1992. Influence of fire on the grass Páramo vegetation of Ecuador. En: Páramo: An Andean Ecosystem under Human Influence. Balslev, H. & J. Luteyn. (eds.) Academic Press. London.
- LAMMI, A., SIIKAMAKI, P. & MUSTAJARVI, K. 1999. Genetic Diversity, Population Size, and Fitness in Central and Peripheral Populations of a Rare Plant *Lychnis viscaria*. *Conservation Biology*. 13(5):1069-1078.
- LEFTKOVITCH, L. P. 1984. A non parametric method for comparing dissimilarity matrices, a general measure of biogeographical distance and their application. *The American Naturalist*, 123(4): 484-499.
- LESTREL, P. 1997. *Fourier descriptors and their applications in biology*. Cambridge Univ. Press.
- LEWONTIN, R. C. 1984. Detecting population differences in quantitative characters as opposed to gene frequencies. *Am. Nat.* 123: 115-124.
- LIU, J., J. M. MERCER, L. F. STAM, G. C. GIBSON, Z.-B. ZENG, AND C. C. LAURIE. 1996. Genetic analysis of a morphological shape difference in the male genitalia of *Drosophila simulans* and *D. mauritiana*. *Genetics* 142:1129-1145.
- LÖNN, M. & PRENTICE, H. 1995. The structure of allozyme and leaf shape variation in isolated, range-margin populations of the shrub *Hippocrepis emerus* (Leguminosae). *Ecography*. 18: 276-285.
- LOPEZ, D., SEDANO, R., PALACIO, J., & H. CADENAS. 2007. Filogeografía de *Iridosornis porphyrocephala*, para la conservación de una especie amenazada de Colombia y Ecuador *Memorias del II Congreso Colombiana de Ornitología*.
- LOVELESS, M. D. & J. L. HAMRICK. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15: 65-95.
- LUTEYN, J. L. 1992. Páramos. A check list of plant diversity, geographical distribution and botanical literature. Volume 84. Editorial The New York Botanical Garden Press, USA.
- MANTEL, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* 27: 209-220.
- MAYR, E. 1964. Systematics and the origin of species, from the view point of a zoologist. Dover Publications Inc. New York, USA.

- MCLELLAN, T. & J. A. ENDLER. 1998. The relative success of some methods for measuring and describing the shape of complex objects. *Systematic Biology*. 47(2): 264-281.
- MENA, V. P & G. MEDINA. 2001. *La Biodiversidad de los Páramos en el Ecuador*. En: Mena, V., Medina, P. G & R. Hofstede (Eds.) 2001. *Los Páramos del Ecuador, particularidades, problemas y perspectivas*. Abya Yala/Proyecto Páramo. Quito.
- MIRKIN, G. R. & L. L. BAGDASARYAN. 1972. The feasibility of identifying paleontological objects with the aid of optical analyzing systems. *Paleontol. Jour.* 6(1): 103-108.
- MOLAU, U. & H. C. PRENTICE. 1992. Reproductive system and population structure in three arctic *Saxifraga* Species. *Journal of Ecology* 80: 149-161.
- MONASTERIO, M. & SARMIENTO, L. 1991. Adaptive radiation of *Espeletia* in the cold Andean tropics. *Trends in Ecology and Evolution*. 6:387–391.
- MONASTERIO, M., 1986. Adaptive strategies of *Espeletia* in the Andean desert páramo, pp. In *High Altitude Tropical Biogeography*, edited by F. Vuilleumier and M. Monasterio. Oxford University Press. New York.
- NYBOM H, OLSSON Å, WERLEMARK G. 1996. Morphometric variation in Nordic dogroses (*Rosa* sect. *Caninae*, Rosaceae). *Acta Universitatis Upsaliensis Symbolae Botanicae Upsalienses* (1996) 31(3):59–68.
- NICE, C. C & SHAPIRO A.M. 1999. Molecular and morphological divergence in the butterfly genus *Lycaeides* (Lepidoptera: Lycaenidae) in North America: evidence of recent speciation. *J. Evol. Biol.* 12: 936-950.
- OLSSON, A., NYBOM, H. & H. C. PRENTICE. 2002. Relationships between Nordic Dogroses (*Rosa* L. sect. *Caninae*, Rosaceae) Assessed by RAPDs and Elliptic Fourier Analysis of Leaflet Shape. *Systematic Botany*. 25(3): 511-251.
- OUBORG, N. J., R. VAN TREUREN. & J. M. M. VAN DAMME. 1991. The significance of genetic erosion. II. Morphological variation and fitness components in populations of varying size of *Salvia pratensis* L. and *Scabiosa columbaria* L. – *Oecologia* 86:359-367.
- PANERO, J. L., R. K. JANSEN, & J. A. CLEVINGER. 1999. Phylogenetic relationships of subtribe Ecliptinae (Asteraceae: Heliantheae) based on chloroplast DNA restriction site data. *American Journal of Botany* 86: 413–427.

- POLANCO, M., GALINDO, L. F. & M. ORDOÑES. 2005. Morfometría del contorno (borde de la forma) con Series de Fourier, paso a paso. Ibagué. Universidad del Tolima. p. 6-25.
- RAMÍREZ, M., J. P. HURTADO, G. J. FERNÁNDEZ. & M. A. QUIJANO. 2007. Análisis morfométrico de la conformación del labelo en *Epidendrum xanthium* Lindl. (Orchidaceae). *Libro de resúmenes del IV Congreso Colombiano de Botánica*, 22 al 27 de Abril de 2007, Medellín. *Actualidades Biológicas* (29), Supl. 1.
- RAND, W. M. 1970. The development of objective criteria for evaluating clustering methods. *Diss Abstr. B. Sci. Eng*, 15: 189-192.
- RANGEL, J. O. 1987. *Colombia diversidad biótica I*. Editorial Guadalupe Ltda. Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Ciencias Naturales; Bogotá D.C.
- RANGEL, J. O. 2000. *Colombia diversidad biótica III: La región de la vida paramuna de Colombia*. Editorial Unibiblos. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Instituto de Ciencias Naturales; Bogotá, Colombia.
- RANGEL, J. O. 2000. *Colombia diversidad biótica III: La región de la vida paramuna de Colombia*. Editorial Unibiblos. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Instituto de Ciencias Naturales; Bogotá, Colombia.
- RAUSCHER, J. O. 2002. Molecular phylogenetics of the *Espeletia* complex (Asteraceae): Evidence from nrDNA ITS sequences on the closest relatives of an Andean adaptative radiation. *American Journal of Botany* 89: 1074-1084.
- RAUSCHER, J. T. 2000. Molecular systematics of the *Espeletia* complex: evidence from nrITS sequence on the evolution of an Andean adaptative radiation. P.h.D. thesis, Washington University, St Louis, Missouri.
- ROHLF, F. J. 1990a. *Morphometrics*. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 21 :299-316
- ROHLF, F. J. 2008. Tps Dig ver 2.12. Copyright© James Rohlf, Ecology and Evolution, SUNY at Stony Brook.
- ROHLF, F. J., & J. W. ARCHIE. 1984. A comparison of Fourier methods for the description of wing shape in mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Syst. Zool.* 33:302-317.
- RUMPUNEN, K. & I. V. BARTISH. 2002. Comparison of differentiation estimates based on morphometric and molecular data, exemplified by various leaf shape descriptors and RAPD's in the genus *Chaenomeles* (Rosaceae). *Taxon.* 51: 69-82.

- SÁNCHEZ, A. 2005. *Filogenética molecular de los Espeletiinae, una radiación adaptativa andina*. Tesis de Maestría. Universidad de los Andes. Bogotá.
- SCHAAL, B. A., W. J. LEVERICH. & S. H. ROGSTAD. 1991. Comparison of methods for assessing genetic variation in plant conservation biology. En: Falk, D. A. & K. E. Holsinger (Eds.) *Genetics and conservation of rare plants*. Oxford Univ. Press, Oxford, pp. 123-134.
- SCHAAL, B.A., HAYWORTH DA, ILSSEN KM, RAUSCHER JT, SMITH WA 1998. Phylogeographic studies in plants: problems and prospects. *Molecular Ecology*. 7: 465-474.
- SHIPUNOV, A. B. & R. M. BATEMAN. 2005. Geometric morphometrics as a tool for understanding *Dactylorhiza* (Orchidaceae) diversity in European Russia. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85: 1-12.
- SIMPSON, B. 1971. Pleistocene changes in the fauna and flora of South America. *Science*. 173: 771-780.
- SKLENÁŘ, P. 2005. *Flora Genérica de los Páramos. Guía Ilustrada de las Plantas Vasculares*. Editorial Borrada; The New York Botanical Garden, USA.
- SMITH, A. C. & M. F. KOCH. 1935. The genus *Espeletia*: A study in phylogenetic taxonomy. *Brittonia* 1: 479-532.
- SMITH, A. P 1980. The Paradox of plant height in Andean giant rosette species. *Journal of Ecology*. 68: 63-73.
- SMITH, A. P 1981. Growth and population dynamics of *Espeletia* (Compositae) in the Venezuelan Andes. *Smithsonian Contributions to Botany*, 48: 1-45.
- SMITH, A. P. Y T.P. YOUNG 1987. *Tropical alpine plant ecology*. Annual review of Ecology and systematics.18: 137-158.
- SOLARTE, M. A., G. NARVÁEZ, G. RIVAS, A. E. BACCA, D. MUÑOZ, J. J. CALDERÓN., C. TORRES, V. FIGUEROA, J. RENGIFO, P. MARTÍNEZ, M. T. DÁVILA, B. CEPEDA & G. CASTILLO 2007. *Proyecto Estado del arte de la Información Biofísica y Socioeconómica de los Páramos de Nariño*, Tomo I. Grupo de investigación en Biología de Páramos y Ecosistemas Andinos, Universidad de Nariño - Corporación autónoma regional de Nariño CORPONARIÑO, San Juan de Pasto, 60 pp.
- SOULÉ, M. E. 1976. Allozyme variation its determinants in space and time. In F.J. Ayala (ed) "Molecular evolution". Sunderland Publishers, Massachusetts.

STURM, H. 1998. *The ecology of the páramo region in tropical high mountains*. Verlag Franzbecker. Germany

van DER HAMMEN, T. & A. M. CLEEF. 1986. Development of the high Andean Páramo flora and vegetation. In: F. Vuilleumier & M. Monasterio (Eds.). *High altitude tropical biogeography*, 153-201. Oxford University Press, New York, USA.

van DER HAMMEN, T. 1974. The Pleistocene changes of vegetation and climate in tropical South America. *J. Biogeogr.* 1: 3-26.

van TREUREN, R., BIJLSMA, R., VAN DELDEN, W & N. J OUBORG. 1991. The significance of genetic erosion in the process of extinction. I. Genetic differentiation in *Salvia pratensis* and *Scabiosa colunzbaria* in relation to population size. – *Heredity* 66: 181-189.

WHITE, R. J., PRENTICE, H. C. & VENVIJST, T. 1988. Automated image acquisition and morphometric description. *Can. J. Bot.* 14: 612-623.

WOLFF, K. 1991. Analysis of allozyme variability in three *Plantago* species and a comparison with morphological variability. *Theor. Appl. Genet.* 81: 119-126.

ZAR, J. H. 1996. *Biostatistical Analysis*. 4th ed. Prentice Hall, New Jersey, 718pp.

ANEXOS

Anexo A

Análisis geográfico y paleogeográfico de las áreas de distribución de *E. pycnophylla* y *E. schultesiana*

Este anexo se ha elaborado con la finalidad de apoyar el segundo objetivo específico de la investigación, ya que en la estructura y dinámica de las poblaciones vegetales, el contexto histórico está íntimamente relacionado al contexto espacial, existiendo relaciones recíprocas de causalidad entre ambos (Loveless & Hamrick 1984). En este caso específico, la forma en la que la que la distribución geográfica de las poblaciones de *E. pycnophylla* se ha modificado en el tiempo, puede estar neurálgicamente anclada o correlacionada a la forma en la que dichas poblaciones están aisladas en el espacio geográfico del departamento de Nariño. Por consiguiente, el componente paleogeográfico puede ser también una explicación a la divergencia morfométrica interpoblacional encontrada.

Por lo tanto, este anexo consta de tres componentes metodológicos: 1) la generación de un mapa paleogeográfico de la cobertura del Paramo *sensu stricto* en del departamento de Nariño para el periodo Tardiglacial del Pleistoceno (hace 14.000 - 10.000 años), usando el modelo paleogeográfico de van der Hammen (1974); 2) la generación de un mapa de distribución geográfica actual de la cobertura de Frailejonal-Pajonal en el departamento de Nariño y 3) la estimación de 10 estados intermedios entre ambos periodos, que permitan inferir un proceso histórico de variación en tamaño, emplazamiento y otros patrones espaciales del ámbito geográfico de *E. pycnophylla*.

El modelo paleogeográfico de van der Hammen (1974)

Este fue modelo construido por el profesor Thomas van der Hammen de la Universidad de Amsterdam, con la ayuda del laboratorio Hugo de Vries de esa universidad y en general, de la escuela holandesa de paleoecología, que ha trabajado identificando la evolución paleogeográfica, paleobiológica y paleoclimática del Cuaternario de los Andes colombianos. Con base en información de registros de polen fósil, estratigrafía y análisis de C^{14} tomada de núcleos sedimentarios extraídos durante veinte años en diferentes páramos de Colombia, van der Hammen (1974) logró determinar los cambios en los patrones de distribución de la cobertura del Páramo *sensu stricto* durante los últimos 14.000 años (fin de la última glaciación). Estos cambios hacen referencia a como el límite natural del páramo ascendió a mayores elevaciones a causa del aumento en la temperatura global promedio, que marcó el inicio del actual Holoceno. Esta respuesta causó que la cobertura

de estos páramos quedara restringida a las cumbres de las montañas y en consecuencia, su área geográfica se contrajera y fragmentara.

Según este modelo, hace 14.000 años, los límites inferior y superior de la cobertura de Páramo *sensu stricto* en los Andes colombianos eran 1900 ± 100 m y 3800 ± 100 m respectivamente y existía una más continua de estos ecosistemas por debajo de los 2500 m. El ascenso y fragmentación gradual de estas zonas como respuesta ecológica al calentamiento global natural causó que en la actualidad, estos límites sean aproximadamente de 3500 m y 4500 m respectivamente (Figura 17). Según van der Hammen (1974), este proceso habría sido la causa de una serie de eventos de vicarianza para muchas especies y serviría como base para estudiar patrones de distribución y especiación en plantas y animales. Efectivamente, este modelo paleogeográfico ha sido aplicado con éxito a plantas como *Persea sp*, *Nectandra sp*, *Ocotea sp*, *Clusia sp*, *Coccolba sp*, *Ilex sp*, *Pouteria sp*, *Machaerium sp* (González 2007), *Espeletia sp* (Benavides *et al* 2010) y aves (López *et al* 2007, Graham *et al* 2010).

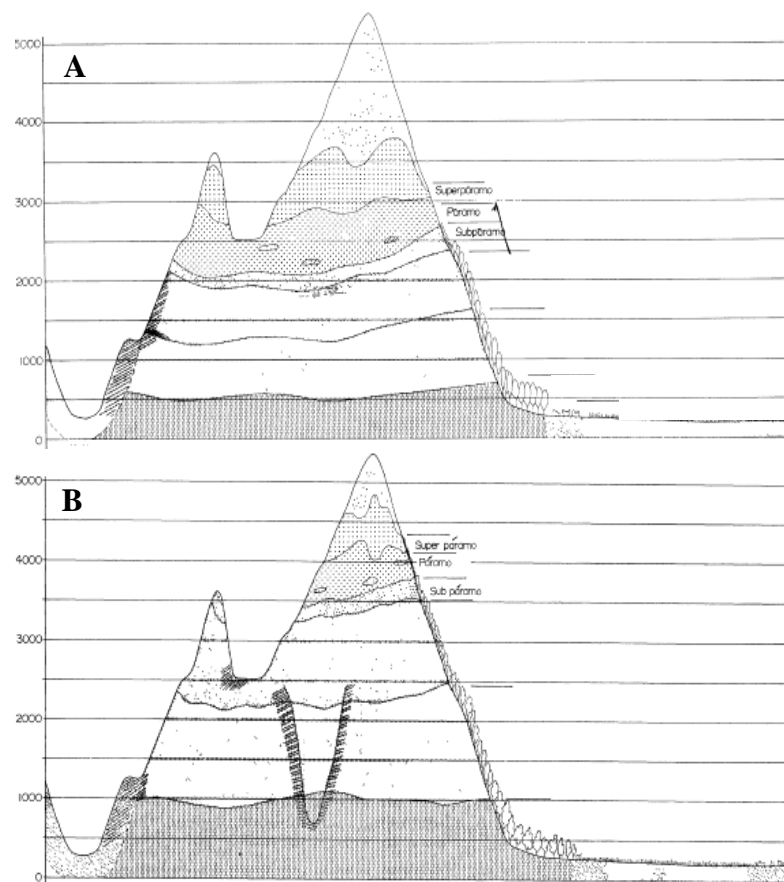


Figura 17. A) Posición altitudinal de las áreas de Páramo en los Andes Colombianos durante el Tardiglacial del Holoceno. **B)** Posición altitudinal actual de las áreas de Páramo en los Andes Colombianos. Tomado de van der Hammen (1974)

Metodología

La reconstrucción del área de distribución para el Tardiglacial del Pleistoceno se realizó mediante la aplicación del modelo de van der Hammen (1974), que explica los cambios altitudinales de los límites inferior y superior en los Páramos colombianos. Con base en datos paleoecológicos inferidos a partir de polen fósil contenido en diferentes núcleos sedimentarios en Colombia, este modelo explica cómo el Páramo *sensu stricto* alcanzó su máxima extensión geográfica en el Tardiglacial, cubriendo un rango altitudinal entre los 2.000 ± 100 m y 3.800 ± 100 m. Posteriormente, el aumento de la temperatura global que marcó el inicio del Holoceno, produjo el ascenso de los Páramos a mayores elevaciones. Esto ha ocurrido como un proceso gradual hasta la actualidad, cuando el Páramo *sensu stricto* abarca un rango altitudinal promedio entre los 3500 ± 100 m y 4100 ± 100 m (Rangel 2000).

Se obtuvo las curvas de nivel para los Andes de Nariño y se aplicaron los estimativos altimétricos de los límites del Páramo *sensu stricto* sugeridos por el modelo de van der Hammen (1974) para el Tardiglacial. Como fuente cartográfica se utilizó el modelo digital de terreno STRM (Shuttle Radar Topography Mission) generado por la NASA (National Aeronautics and Spaces Administration) y la NGA (National Geospatial Intelligence Agency), a una resolución de 30m. La imagen fue inicialmente tratada con un Análisis de Componentes Principales con el fin de recuperar la mayor parte de la información posible, y facilitar su interpretación en términos de la variabilidad original (Chuvienco 1996).

Para la estimación de las áreas actuales se analizó la imagen Landsat TM de octubre 14 de 2002 (path 9 row 59, 8 bandas, en formato BSQ, cuadrante II, con selección de campos de entrenamiento en pantalla), la cual permitió identificar la cobertura del Frailejónal-Pajonal dentro del Páramo *sensu stricto*, asociación donde *E. pycnophylla* se establece mayoritariamente (Solarte *et al* 2007). Los 10 estados intermedios entre ambos periodos se obtuvieron variando los límites inferior y superior del Páramo *sensu stricto* cada 100 m, partiendo desde el Tardiglacial hasta alcanzar su estatus altitudinal actual. Una vez estimada la extensión y los patrones de distribución geográfica de estas áreas, se analizaron las posibles relaciones entre sus características espaciales y se generaron los correspondientes mapas temáticos a través de un SIG en plataforma ArcGis ver 9.2.

Resultados

Esta aproximación reveló que durante el Tardiglacial, el ámbito geográfico de *E. pycnophylla* y *E. schultesiana* era un espacio continuo y mucho más extenso que el actual. El mapa de la Figura 18A revela la existencia de una gran población principal formada por la unión de todas las poblaciones actuales, la cual se encontraba rodeada de algunas pocas y pequeñas poblaciones marginales hacia el norte y suroccidente. El tamaño del área de distribución estimada para dicha población fue de 8351 km². Posterior al Tardiglacial, se detectaron cuatro eventos importantes de fragmentación, que en orden cronológico son: 1) La separación de dos grandes poblaciones, por un lado una agrupación de las que hoy pertenecen al complejo de Páramos Sur-Occidental (PCC – PVG – PPB), y por otro aquellas que corresponden al complejo Centro Oriental (PVG – PLO – PET – PAC – PCB). Es posible que esta fragmentación incipiente fuese causada por el efecto geomorfológico de la depresión del río Guaitara, ya que es una extensión de tierras medias que atraviesa el departamento de Nariño de norte a sur, alrededor de la cual las áreas de Páramo *sensu stricto* pudieron iniciar fácilmente su avance altitudinal por encima de los 2900 ± 100 m (Figura 18B).

2). La fragmentación de la población suroccidental en dos partes, una conformada por (PCC-PAG) y otra por PPB. Esto ocurrió cuando los Páramos *sensu stricto* comenzaron a ascender sobre la zona de altiplanos suroccidentales de Nariño, por encima de los 3100 ± 100 m (Figura 18C). 3) La separación de PVG del grupo de poblaciones del complejo Centro-Oriental, cuando el límite inferior del Páramo *sensu stricto* empezó su ascenso por encima de los 3200 ± 100 m en valle volcánico del Galeras (Figura 18D). 4) Finalmente se aislaron las poblaciones restantes de la zona Centro-Oriental (PLO-PET-PAC-PCB), cuando el límite inferior promedio del Páramo *sensu stricto* ascendió por encima de los 3200 m ± 100 m (Figura 18E). Este último evento de fragmentación ocurrido ya en el Holoceno, concuerda satisfactoriamente con la forma en la que las ocho poblaciones de estudio están al presente distribuidas (Figura 18F). El actual grado de fragmentación de las poblaciones es considerablemente alto y su extensión suma un total de 669.90 km². Por lo tanto, el resultado de esta serie de eventos históricos de aproximadamente 14.000 años de duración no solo ha sido la fragmentación, sino la concomitante reducción del 92% de las áreas de distribución de ambas especies. El motor de estos fenómenos históricos fue el incremento de la temperatura global media, que marcó el inicio del Holoceno y que forzó la vegetación paramuna a ascender a mayores elevaciones, una respuesta ecológica adaptativa (van der Hammen 1974). Así, los páramos y sus individuos de *E. pycnophylla* y *E. schultesiana* quedaron restringidos a las cumbres de las montañas, perdieron su continuidad y formaron poblaciones geográficamente aisladas.

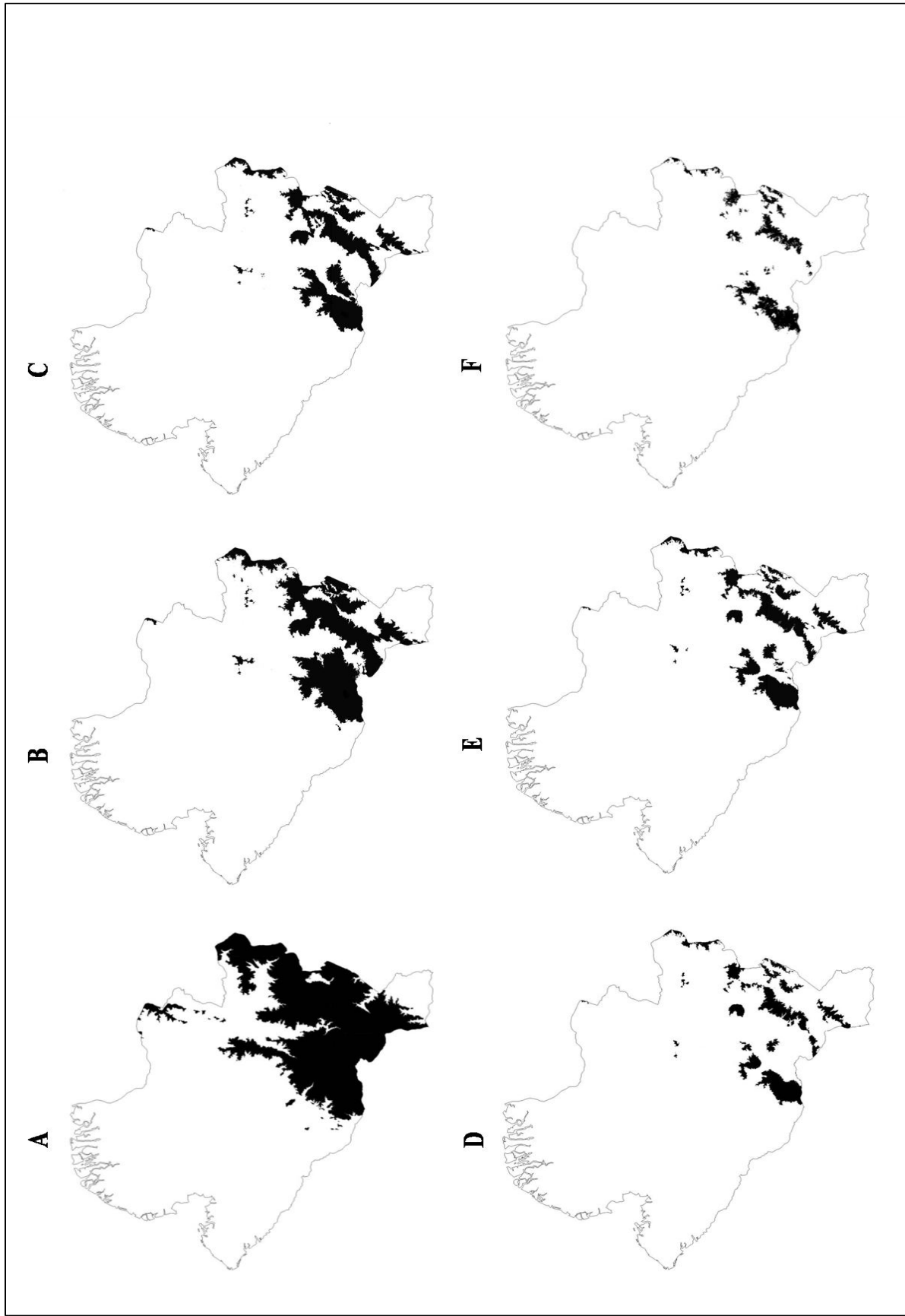


Figura 18. A) Reconstrucción paleogeográfica de la distribución de *E. pycnophylla* durante el Tardiglacial (hace 14.000 – 10.000 años) en el departamento de Nariño, aplicando el modelo de cambios altitudinales de van der Hammen (1974). B), C) y E) Cuatro eventos cruciales de reducción de área y fragmentación espacial de la distribución de *E. pycnophylla* y *E. schultesiana*, interpolados con base en sus estados Tardiglacial y actual. F) Estimación de la distribución geográfica actual de *E. pycnophylla* y *E. schultesiana* en el departamento de Nariño.

La Figura 19 representa el proceso descrito anteriormente en un cladograma de áreas histórico, que muestra sintéticamente la historia de fragmentación de las ocho poblaciones estudiadas y sus diferentes grados de similitud y disimilitud actual con base en los tiempos estimados en que permanecieron unidas. En este gráfico se forman dos grupos generales, uno compuesto por las poblaciones suroccidentales (PCC-PAG-PPB) y otro por las Centro Orientales (PVG-PLO-PET-PAC-PCB). La razón por la cual PCC y PCB se encuentran en los extremos del cladograma, es que tuvieron un tiempo de conexión relativamente corto antes de su separación. Por el contrario, la fragmentación de PAC y PCB, poblaciones muy cercanas en el cladograma, fue un suceso mucho más reciente, lo que implica que estuvieron unidas por un intervalo temporal mayor.

Evidentemente, las topologías del dendrograma biogeográfico o de áreas de la Figura 13A y del cladograma de áreas histórico se corresponden en buena medida, ya que es obvio que poblaciones actualmente cercanas en el espacio geográfico, tuvieron mayor posibilidad de permanecer unidas durante una mayor cantidad de tiempo. Esto posee una implicación muy importante, y es que tiempo y espacio son dos variables que no pueden ser evaluadas por separado para explicar la relación entre la divergencia poblacional en *E. pycnophylla* y *E. schultesiana*. El corolario de esta serie de análisis es que las ocho poblaciones estudiadas, que en la actualidad están aisladas geográficamente, provienen de una sola población ancestral más grande y continua que se fragmentó gradualmente y en múltiples eventos después del Tardiglacial del Pleistoceno y durante todo el Holoceno.

13.5 Relación entre patrones paleogeográficos y variación morfométrica

Haciendo una comparación entre el cladograma de áreas histórico (Figura 19) y el dendrograma morfométrico (Figura 13B), se puede observar que poseen una topología similar, con los mismos grupos generales (PCC-PAG-PPB) (PVG-PLO-PET-PAC-PCB) y la misma estructura jerárquica en cuanto a similitud y disimilitud entre poblaciones. Esta concordancia indica que poblaciones que durante su historia biogeográfica permanecieron unidas durante un tiempo prolongado y se separaron en etapas relativamente recientes, poseen una mayor similitud morfométrica que aquellas cuya fragmentación ocurrió en etapas anteriores. Esto implica que el tiempo de contacto físico entre las poblaciones estudiadas ha influido de forma significativa sobre sus relaciones morfométricas. En otras palabras, entre menor sea el tiempo de contacto físico entre cualquier par de poblaciones, mayores son sus diferencias morfométricas y viceversa.

Figura 19. Cladograma de áreas histórico. Se muestran los posibles múltiples eventos de fragmentación del área de distribución potencial y de las poblaciones actuales de *E. pycnophylla* y *E. schultesiana* desde el Tardiglacial hasta la actualidad. Cada nodo representa un evento de fragmentación de un grupo de poblaciones o de una población individual en un punto del tiempo. Todos los eventos de fragmentación fueron reconstruidos utilizando una interpolación entre el estado Tardiglacial y actual, con base en el modelo de cotas altitudinales de van der Hammen (1974). **AP** = Antes del presente.

