

Título: Autoecología, biología floral y sistema reproductivo de *Ravenia spectabilis* subsp. *leonis* (Vict.) Beurton.

Trabajo de Diploma

Autor: Rafael Alejandro Pérez Obregón

Tutor: Dr. C. Alfredo Noa Monzón

Santa Clara 2012

Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas Facultad de Ciencias Agropecuarias Departamento de Biología



Trabajo de Diploma

Título: Autoecología, biología floral y sistema reproductivo de *Ravenia spectabilis* subsp. *leonis* (Vict.) Beurton.

Autor: Rafael Alejandro Pérez Obregón Tutor: Dr. C. Alfredo Noa Monzón

> Santa Clara 2012

Dedicatoria

A mi abuela y mis dos hermanas y en especial a mi madre y mi padre.

Agradecimientos

A mi familia en general: mis padres María Amalia y Vladimir, a mi abuela Chiqui y a mis hermanas Claudia y Rocío.

A Leticia por estar siempre a mi lado y soportarme todo este tiempo

A mi tutor Alfredo Noa por proponerme el tema, su orientación y ayuda

A Lourdes García (la suegra): por su inmensa ayuda, gracias

A Michel Faife por sus consejos y ayuda incondicional, y a todos los demás trabajadores del CE-JBVC que me apoyaron.

A los trabajadores del laboratorio de análisis de suelo del CIAP, por su contribución.

A Novisel Veitía por dedicar parte de su tiempo al procesamiento estadístico A todos mis profesores por el conocimiento brindado y contribuir a mi formación profesional.

A mis compañeros de carrera y en especial a los 13 que llegamos hasta el final.

Resumen

Ravenia spectabilis subsp. leonis (Vict.) Beurton se distribuye en Cuba y la Española, es un taxón reportado como amenazado para la provincia de Villa Clara. La falta de estudios específicos relacionados con la autoecología y con mecanismos de propagación de la especie, dificultan la elaboración de programas objetivos que contribuyan a la conservación de este taxón, por lo que el presente trabajo se traza como objetivos diagnosticar las condiciones ambientales en que se desarrolla; determinar representantes de la flora asociada a este taxón en su hábitat; caracterizar aspectos de su fenología. biología floral y evaluar su sistema reproductivo. Para diagnosticar las condiciones ambientales requeridas por la especie se determinó la cercanía a las fuentes de agua y se le realizó análisis físico-químico al suelo. La flora asociada se determinó a partir del establecimiento de parcelas. Los parámetros fenológicos se siguieron durante un año cuantificándose el número de botones, flores, (en fase masculina y femenina) y frutos. Se evaluó la biología floral a través de variables morfológicas, diámetro de la corola y de la apertura del pseudotubo de la corola y largo del estilo por estado sexual. Para evaluar sistemas reproductivos se realizaron experimentos relacionados con: geitonogamia. autopolinización agamospermia, expontánea, autogamia, xenogamia, suplementación de polen que se contrastó con un grupo control. La especie se desarrolla sobre un suelo ultramáfico a una distancia media del agua de 2 m. En su flora asociada destacan 11 endémicos y el 52 % presenta alguna categoría sinantrópica, esto evidencia la degradación de su hábitat. La especie presenta una floración larga, casi todo el año, con mayor intensidad en junio y julio; presenta superposición de fases sexuales y sin sincronismo, esto puede facilitar la geitonogamia. En la etapa femenina las flores presentan mayor tamaño; la producción de néctar y concentración de sacarosa es mayor en la etapa masculina y cuando se somete a extracciones sucesivas se produce en mayor cantidad y concentración que sin extracción, por lo que se refuerzan las funciones masculinas y la capacidad de resíntesis garantiza una oferta constante de néctar lo cual puede repercutir en el número de visitas florales. La planta no es capaz de reproducirse por partenocarpia ni de autopolinizarse. Sin embargo, es autogámica y fructifica por geitonogamia y xenogamia. La intervención de polinizadores es esencial para garantizar su reproducción y potenciar la variabilidad genética de su descendencia, aspecto a tener en cuenta para la conservacion de la especie.

Palabras claves: autoecología, biología floral, fenología, Ravenia, sistema reproductivo.

Abstract

Ravenia spectabilis subsp leonis (Vict.) Beurton is distributed in Cuba and the Spaniard, reported as a threatened taxon for Villa Clara's province. The lack of specific studies related with auto-ecology and with mechanisms of propagation of the species, make the elaboration of objective programs that contribute to the conservation of this taxon difficult, so that the objectives of the present work are: to diagnose the environmental conditions where it develops in; to determine representatives of the flora related to this taxon in its habitat; to characterize its phenology aspects, floral biology and to evaluate its reproductive system. To diagnose the environmental conditions required by the species, the proximity to the water sources was determined in order to accomplish the physical-chemical analysis to the soil. The associated flora was determined according to the establishment of plots of land. Phenologic parameters were followed during a year to quantify the number of buttons, flowers, (in male and female phase) and fruits. The floral biology through morphologic variables, diameter of the corolla of the opening of the pseudotube of the corolla and length of style for sexual status was evaluated. To evaluate the reproductive systems some experiments were done related to: agamospermy, self-pollination, autogamy, geitonogamy, xenogamy, and suplementation of pollen that it is contrasted with a control group. The species develops on an ultramaphic soil at a half distance of the water, 2 m. In its associated flora stands out 11endemics and the 52% presents synantropic category, that evidences the degradation of its habitat. The species presents a long flowering, almost all year round, with higher intensity in june and july and presents overlap of sexual phases and without synchronism, this can provide the geitonogamy. In the female stage the flowers present bigger size; the production of nectar and concentration of sucrose is bigger in the male stage and when it is subjected to successive extractions it produces in bigger quantity and concentration than without extraction, then they reinforce masculine functions and the capability of re-synthesizes guarantees a constant offer of nectar what influence in the number of floral visits. The plant is not able to reproduce neither for partenocarpy nor for auto-pollination. However, it is autogamic and it bears fruit for geitonogamy and xenogamy. The intervention of pollination agents is essential to guarantee reproduction and to the genetic variability of the descendants, aspect to take into consideration for the conservation of the species.

Keywords: phenology, floral biology, Ravenia, reproductive system, autoecology,

| Índice | Página |
|---------------------------------------------------------------------|--------|
| 1. Introducción | 1 |
| 2. Revisión bibliográfica | 4 |
| 2.1 Caracterización taxonómica | 4 |
| 2.1.1 Características de la familia Rutaceae | 4 |
| 2.1.2 Características del género Ravenia | 5 |
| 2.1.3 Tratamiento taxonómico dado a Ravenia spectabilis (Lindl.) Pl | anch |
| . ex Griseb. en Cuba | 6 |
| 2.1.4 Características botánicas de Ravenia spectabilis subsp. Leoni | s |
| (Vict.) Beurton | 7 |
| 2.1.5 Distribución y caracterización fitogeográfica | 7 |
| 2.2 Formaciones vegetales donde habita R. spectabilis subs. Leonis | 8 |
| 2.3 Autoecología | 9 |
| 2.4 Flora asociada | 9 |
| 2.5 Biología floral | 9 |
| 2.6 Fenología | 10 |
| 2.7 Biología reproductiva | 10 |
| 2.7.1 Sistemas reproductivos | 10 |
| 2.7.2 Sistema reproductivo en Ravenia | |
| 2.7.3 Dicogamia | 11 |
| 2.7.4 Proteandría en Rutaceae | 13 |
| 3. Materiales y métodos | 14 |
| 3.1 Área de estudio | 14 |
| 3.2 Diagnóstico de condiciones ambientales que requiere Ravenia | |
| spectabilis subsp. leonis | 15 |
| 3.3 Determinación de la flora asociada a Ravenia spectabilis | |
| subsp. leonis | 16 |
| 3.4 Evaluación de parámetros fenológicos y de su biología floral | 16 |
| 3.4.1 Estudio fenológico | 16 |
| 3.4.2 Biología floral | 17 |
| 3.5 Biología reproductiva | 18 |
| 4. Resultados | 21 |
| 4.1 Condiciones ambientales que require Ravenia spectabilis | |
| | |

| 8. Anexos 1, 2, 3, 4 | |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| 7. Recomendaciones | 37 |
| 6. Conclusiones | 36 |
| 5.4 Biología reproductiva | 33 |
| 5.3.2 Biología floral | 32 |
| 5.3.1 Fenología | 31 |
| 5.3 Evaluación de parámetros fenológicos y de su biología floral | 31 |
| 5.2 Flora asociada | 30 |
| 5.1 Condiciones ambientales que requiere R. spectabilis subsp. leonis | 29 |
| 5. Discusión | 29 |
| 4.4 Biología reproductiva | 27 |
| 4.3.2 Biología floral | 25 |
| 4.3.1 Evaluación fenológica | 22 |
| 4.3 Evaluación de parámetros fenológicos y de su biología floral | 22 |
| 4.2 Flora asociada | 21 |
| subsp. leonis | 21 |

1. Introducción

El ordenamiento de la actividad científica en Cuba ha transitado por varias etapas en su desarrollo y en la actualidad se perfeccionan las vías para que esta responda adecuadamente a las necesidades de nuestro desarrollo sostenible. Recientemente se emite la Resolución 44/2012 del CITMA, firmada por el entonces Ministro Dr. José M. Miyar Barrueco donde se establece la forma organizativa fundamental para la planificación, financiamiento, ejecución, evaluación y control de estas actividades en programas y proyectos, los cuales deben responder a prioridades. Entre las prioridades nacionales definidas por este organismo a partir de la promulgación de dicha resolución está *Medio ambiente cubano* y dentro de este la *Diversidad biológica*.

La pérdida de la diversidad biológica ha sido considerada en la Estrategia Nacional Ambiental (CITMA, 2005) como uno de los cinco principales problemas ambientales del país. A raíz de lo cual se han iniciados gran cantidad de proyectos encaminados hacia la conservación de especies vegetales endémicas o no, pero con alguna categoría de amenaza (Berazaín *et al.*, 2005).

Los principales estudios desarrollados en Cuba relacionados con el reino vegetal han estado vinculados principalmente a la taxonomía y distribución de las especies, caracterización de las formaciones vegetales, inventarios florísticos y la creación de programas más o menos fundamentados para la conservación de algunas especies amenazadas de extinción.

La concepción de conservación de especies vegetales en nuestro país se basa en la aplicación de técnicas integradas *in situ* (la protección en sus ecosistemas) - *ex situ* (fuera de sus ecosistemas naturales, ejemplo, en colecciones de los jardines botánicos).

Los esfuerzos conservacionistas están vinculados a especies que se encuentran amenazadas, generalmente por pérdida de hábitat, disminución de las poblaciones o por presentar áreas de distribución restringidas, entre otras causas. En el caso de *Ravenia spectabilis* subsp. *leonis*, es reportada como amenazada para Villa Clara (Noa et al., 2005) por considerarse que cumple con los requisitos anteriormente señalados. Este taxón pertenece a la familia *Rutaceae* y junto a otras tres especies constituyen la representación del género *Ravenia* para nuestro país. En Cuba se conocen con el nombre común de Arraiján y se reporta su uso como medicinal y también como ornamental, por el atractivo de sus flores (Roig, 1965).

Hasta el momento los estudios realizados en Cuba sobre *Ravenia spectabilis* subsp. *leonis* han abordado principalmente temas de su distribución, descripción y ubicación taxonómica. Sin embargo, no se han abordados aspectos relacionados con las características ecológicas del hábitat donde se desarrollan las poblaciones de esta especie, así como de su fenología, biología floral y sistemas reproductivos.

En el presente trabajo se profundiza en estudios específicos en *Ravenia* spectabilis subsp. *leonis* que permita contribuir a la conservación de este taxón que se encuentra en peligro de extinción en Villa Clara a partir de lo planteado en el siguiente problema científico.

Problema científico: La falta de estudios específicos relacionados con la autoecología y con mecanismos de propagación de la especie, dificultan la elaboración de programas objetivos que contribuyan a la conservación de este taxón amenazado de extinción en Villa Clara.

Para dar solución al mismo se proponen los siguientes objetivos:

Objetivo general: Evaluar parámetros de la autoecología, biología floral y sistemas reproductivos en *Ravenia spectabilis* subsp. *leonis* que permitan recomendar acciones de conservación para este taxón amenazado de extinción en Villa Clara.

Objetivos específicos:

- 1. Diagnosticar las condiciones ambientales que requiere el hábitat de las poblaciones de *Ravenia spectabilis* subsp. *leonis* en Villa Clara para su establecimiento.
- 2. Determinar la flora acompañante asociada a *R. spectabilis* subsp. *leonis* en las localidades objeto de estudio que permita recomendar futuras acciones de restitución de poblaciones de este taxón en áreas de características similares.
- 3. Evaluar parámetros fenológicos y de la biología floral en poblaciones naturales de *R. spectabilis* subsp. *leonis* en localidades de Villa Clara.
- 4. Evaluar sistemas reproductivos que utilizan de forma natural los individuos de *R. spectabilis* subsp. *leonis*, para el manejo de la especie tanto en condiciones *ex situ* como *in situ*.

2. Revisión bibliográfica

2.1 Caracterización taxonómica

2.1.1 Características de la familia Rutaceae

Para la caracterización de la familia, el autor asume el criterio empleado por Beurton (2008), por constituir un estudio específico en la familia *Rutaceae* para Cuba, publicado recientemente.

Beurton (2008) describe la familia como árboles, arbustos, trepadoras o hierbas siempreverdes o deciduos; dioicos, monoicos o polígamos. Hojas compuestas o unifolioladas, rara vez en apariencia simple o filódicas, alternas u opuestas; estípulas ausentes, a veces sustituidas por acúleos o escamas; pecíolo con frecuencia alado; láminas usualmente con glándulas. Inflorescencias terminales, o axilares, en panícula, racimo o fascículo, raramente unifloras. Flores hermafroditas o unisexuales, actinomorfas o zigomorfas. Cáliz 3-5(-6)meros, los sépalos libres o basalmente concrescente, de prefoliación imbricada o valvar. Corola (2-)3-5(-8)-mera, los pétalos alternisépalos, libres o rara vez ± concrescentes, de prefloración imbricada o valvar. Estambres tantos como los sépalos a muy numerosos, uni- o biseriados, todos fértiles o algunos estaminodiales; filamentos libres o concrescentes, ± dilatados basalmente; anteras introrsas, con dehiscencia longitudinal. Disco nectarífero presente, intrastaminal, a veces alargado (ginóforo). Ovario generalmente súpero, (1-)4-5(-∞)-mero; carpelos libres (aunque muchas veces con estilo y estigma común) hasta completamente concrescentes; primordios seminales 1-2(-∞) por lóculo; estilos subbasales a terminales, libres o concrescentes; estigma entero o lobado. Frutos en folículo, cápsula, esquizocarpo, sámara, drupa, baya o hesperidio; lóculos a menudo rellenos de vesículas jugosas o pulpa; placenta a veces formando un arilodio membranáceo. Semillas con embrión recto o curvo; endospermo presente o ausente.

Según Beurton (2008) esta familia tiene distribución cosmopolita, aunque mayormente tropical y subtropical, representada entre 145-160 géneros y entre 925-1800 especies. En Cuba crecen 8 géneros indígenas que comprenden 45 especies y se cultivan ampliamente representantes de 8 especies e híbridos

pertenecientes a 4 géneros, tres de ellos también subespontáneos naturalizados.

2.1.2 Características del género Ravenia

Las características genéricas a que hace referencia el autor se basan en las planteadas por Beurton (2008). Son arbustos o árboles inermes. Hojas opuestas, (1-) 3-folioladas en apariencia simple y entonces las de un par ± desigual; folíolos ± inequiláteros, glanduloso-punteados. Inflorescencias paucifloras, en cima terminal pareciendo axilar, o uniflora. Flores hermafroditas, 4-5-meras, vistosas, zigomorfas. Sépalos persistentes, glandulosos, de prefloración coclear, biseriados, los 2 exteriores más grandes que los interiores, de forma variada, ± alargados después de la antesis, envolviendo los folículos, luego patentes, los 2-3 interiores basalmente ± concrescentes. Corola tubulosainfundibuliforme, glandulosa, glabra por fuera, con lobos desiguales de prefloración imbricada. Estambres fértiles 2; filamentos (fértiles y estériles) aplanados; libres pero con márgenes continuos soldados entre sí y al tubo de la corola, formando un pseudotubo; anteras soldadas entre sí, subsésiles en el ápice del pseudotubo, estrechamente elipsoide a triangular-ovoideas, caedizas, ventralmente con dos hileras de glándulas grandes flanqueando el conectivo; estaminodios 3, con ápices libres subulados, blanquecinos, glandulosos, de tamaño desigual, el medial a veces trilobado. Disco cupuliforme, carnoso o ± sutil, blanquecino, pelúcido, de margen entero, crenado o dentado. Ovario 4-5mero; carpelos libres inmersos en el disco; estilos laterales, libres, distalmente soldados pero separables durante la antesis, filiformes; estigma 4-5-lobado; rudimentos seminales 2 por carpelo, superpuestos. Folículos 1-5, libres, bivalvados (1-) 2-spermos; endocarpo elástico, córneo; arilodio triangular, membranáceo. Semillas glanduloso-verrugosas, ricas en aceites.

El género abarca unas 10-11 especies de Antillas Mayores, América Central (Nicaragua) y América del Sur. En Antillas Mayores crecen cinco especies, de ellas cuatro en Cuba, tres son endémicas y una es compartida con La Española.

2.1.3 Tratamiento taxonómico dado a *Ravenia spectabilis* (Lindl.) Planch. ex Griseb. en Cuba

León y Alain (1951) reportan siete especies de *Ravenia* para Cuba: *R. spectabilis* (Lindl.) Planch. ex Griseb., *R. carabiai* Vict., *R. ekmanii* Urb., *R. shaferi* P. Wilson, *R. simplicifolia* C. Wright ex P. Wilson, *R. leonis* Vict. y *R. clementiana* Vict. Alain (1974) plantea la probabilidad de que *R. clementina* Vict. solo sea una forma de *R. leonis* Vict.

En 1977 Borhidi y Muñiz describen una nueva especie para Cuba, *R. baracoensis* Borhidi & O. Muñiz y en 1975 estos autores asignan un nuevo *status* para *R. clementina* Vict., pasándola al nivel de subespecie y considerándola sinónimo de *R. leonis* Vict. como había previsto anteriormente Alain (1974).

En el nuevo tratamiento realizado por Beurton (2008) para *Flora de la República de Cuba* reduce el número de especies presentes en el territorio cubano a cuatro: *R. spectabilis* (Lindl.) Planch. ex Griseb. con dos subespecies: *R. spectabilis* (Lindl.) Planch. ex Griseb. subsp. *spectabilis y R. spectabilis* subsp. *leonis* (Vict.) Beurton; *R. simplicifolia* C. Wright ex P. Wilson; *R. baracoensis* Borhidi & O. Muñiz y *R. shaferi* P. Wilson.

R. carabiai Vict. es tratada como sinónimo de R. simplicifolia C. Wright ex P. Wilson; R. ekmanii Urb. como sinónimo de R. shaferi P. Wilson; R. leonis Vict. y R. clementiana Vict. como sinónimos de R. spectabilis subsp. leonis (Vict.) Beurton.

El nombre aceptado en la actualidad para la subespecie objeto de estudio es el que da a conocer Beurton (2008) con 3 sinónimos asignados a táxones cubanos.

Ravenia spectabilis subsp. leonis (Vict.) Beurton

Sinónimos: *R. leonis* Vict., *R. clementiana* Vict., R. *leonis* subsp. *clementiana* (Vict.) Borhidi & O. Muñiz

2.1.4 Características botánicas de *Ravenia spectabilis* subsp. *leonis* (Vict.) Beurton

Arbusto de hojas trifoliadas, algo coriáceas, con pecíolo de 5-33 mm de longitud (León y Alaín, 1951), folíolos de hojas bien desarrollados de (1,6-) 2,1-6 (-7) cm de largo por 0.5-1.4(1.6) cm de ancho, los más pequeños se encuentran en ambientes áridos, o a veces sobre serpentina, estrechamente lanceolados o estrechamente obovados, rara vez estrechamente oblongoaovados, obtusos, apiculados o agudos, rara vez emarginados, de margen recurvado a revoluto, rara vez plano; pedúnculo glabro de (1-) 2-6,5 (-8) x 0,5-1,2 mm. Pedicelos de 2-7 (10) mm de largo, subglabros. (Beurton, 2008). Flores generalmente 5-meras de 1,2-2 cm de largo; sépalos exteriores ovales u ovados, de 1,2-1.5 x 0,8-1 cm, los interiores (2-)3, ovales a orbiculares, de 0,7-1 x 0,6-1 cm, más pálidos que los exteriores, de margen entero; corola de tubo cilíndrico de 0.8-1.5 cm de largo y lobos ovales de 1-2 x 0.5-1,3 cm, púrpura rojo o rosado intenso. Pseudotubo estaminal con pelos simples por dentro; estaminodios con ápices libres pilosos, a veces trilobados. Folículos de 3-4 más 1 ó 2 abortivos; semillas irregularmente redondeado-tetraédricas, de 2,5-3,6 x 1,8-2,4 mm, parduscas (Noa et al. 2005).

2.1.5 Distribución y caracterización fitogeográfica

La subespecie se localiza, según Beurton (2008), en La Española (Haití) y en Cuba. Su distribución por provincias en la isla es referida para Cuba central: Villa Clara (cerca de Santa Clara), Camagüey, Las Tunas (Puerto Padre) y para Cuba oriental: Holquín, Santiago de Cuba y Guantánamo.

Noa y Castañeda (1998) plantean que el taxón encuentra su límite occidental en el distrito *Claraense* y según com. pers. de Pedro Herrera (citada por Noa y Castañeda, 1998) se reporta por primera vez para serpentinitas en esa fecha. León y Alain (1951) lo reportaban para terrenos calcáreos de las antiguas provincias de Oriente, Camagüey y Las Villas.

Varios son los tipos de formaciones vegetales para los que se reporta la subespecie estudiada. Noa et al. (2005) reconocen su existencia en bosques

de galerías asociados a matorral xeromorfo espinoso sobre serpentinita al sur de Santa Clara, específicamente en las localidades de Las Clavellinas, La Movida y El Playazo. En Lomas de Sinaloa, municipio de Camajuaní, es reportada por estos autores asociada a vegetación cársica.

Beurton (2008) la reporta en matorral xeromorfo costero y subcostero, en complejos de vegetación de mogotes y menos frecuente en matorral xeromorfo subespinoso sobre serpentinita, entre los 400 y 600 msm. León y Alain (1951) reportan a *Ravenia clementiana* (sinonimia de *R. spectabilis* subsp. *leonis*) creciendo además en vegetacion de pinares en la región oriental, presumiblemente en Sierra Maestra.

2.2 Formaciones vegetales donde habita *Ravenia spectabilis* subsp. *leonis*

Se utilizan los criterios propuestos por Capote y Berazaín (1984) y Berazaín *et al.* (2005) para determinar las características de las formaciones vegetales citadas por la bibliografía en las que se reporta la presencia del taxón.

El matorral xeromorfo costero y subcostero se caracteriza por la presencia de arbustos y árboles emergentes achaparrados, con elementos deciduos mayormente esclerófilos, micro y nanófilos en zonas litorales (Capote y Berazaín, 1984). El complejo de vegetación de mogotes se localiza en montañas cársicas, distinguiéndose fisonómicamente tres formaciones: en la cima un bosque bajo hasta 10 m de un solo estrato arbóreo, en los paredones verticales una vegetación con palmas, pequeños árboles y arbustos y en la base un bosque semideciduo mesófilo (Berazaín et al., 2005). El matorral xeromorfo subespinoso sobre serpentinita se caracteriza por la presencia de un estrato arbustivo denso, con emergentes (Capote y Berazaín, 1984); los elementos son mesófilos esclerófilos, con menos abundancia de elementos espinosos que en los cuabales (Berazaín et al., 2005); se presenta en llanuras colinosas y montanas, sobre suelos derivados de serpentinitas de Cuba oriental (Capote y Berazaín, 1984). El matorral xeromorfo espinoso sobre serpentinita se caracteriza por un estrato arbustivo denso de 2-4 m, con emergentes de 4-6 m (Capote y Berazaín, 1984); los elementos son espinosos, esclerófilos,

micrófilos y nanófilos, con herbáceas dispersas, palmas, epífitas y abundancia de lianas. (Berazaín *et al.*, 2005); se presenta principalmente en llanuras y alturas bajas sobre suelos derivados de serpentinitas (Capote y Berazaín, 1984). En el suelo hay abundancia de elementos pesados como Ni, Cr, Co, y deficiencia de macronutrientes como Ca, N, P, K, además una alta concentración de magnesio lo que provoca una relación Ca/Mg inferior a 1 (Berazaín, 1981). Los bosques de galería se forman a orillas de ríos y arroyos y forman un estrato arbóreo de 15-20 m, uno arbustivo, con presencia de hierbas, lianas y epífitas. (Capote y Berazaín, 1984); las especies que conforman los bosques de galería son pertenecientes a las formaciones vegetales próximas al curso del río, pero también de otras más alejadas que han sido transportadas principalmente por el flujo del agua (Faife, 2008). Los pinares están constituidos por un estrato arbóreo de árboles siempreverdes (*Pinus spp.*), un estrato arbustivo y otro herbáceo (Capote y Berazaín, 1984).

2.3 Autoecología

La autoecología es el estudio de las relaciones de una especie con su medio. Se encarga del estudio de las adaptaciones de una especie a los factores abióticos y al análisis cuantitativo, que se interesa por la distribución geográfica y la dinámica poblacional y el cualitativo, que considera a los caracteres genéticos (Clarke, 1978).

2.4 Flora asociada

La flora asociada o acompañante es toda aquella que convive en un área predeterminada y que resulta de la confección de un inventario florístico, en este caso todas las especies que están presentes en el área de estudio conviviendo con *Ravenia spectabilis* subsp. *leonis*. El inventario florístico consiste en una lista de especies que constituye un elemento insustituible para el conocimiento de la flora de un área y puede convertirse en una fuente importante de información (Matos, 2006).

2.5 Biología flora

Font Quer (1970) la define como la parte de la biología que se ocupa de todo cuanto atañe a las funciones florales. Aunque en sentido estricto se aplica al

estudio de las relaciones que se establecen entre flores y polinizadores, así como al de todas las particularidades florales que se relacionan con la polinización. El estudio de la biología floral de una especie, según Nelson (2007) abarca los aspectos relacionados con la morfología, color, forma y tamaño de las flores.

2.6 Fenología

Fenología, es un término referido al estudio de los fenómenos biológicos acomodados a cierto ritmo periódico, como la brotación, la florescencia, la maduración de los frutos, etc (Font Quer, 1970).

Según Albert *et al.* (1993), para realizar las observaciones fenológicas, deben escogerse individuos de plantas completamente desarrollados y sanos. Fournier y Charpentier (1975) recomiendan seleccionar una muestra de 10 individuos en orden de aparición, en cada uno se monitorea el estado fenológico con frecuencia quincenal.

2.7 Biología reproductiva

La biología reproductiva de las plantas abarca los elementos relacionados con las características de la reproducción, que van desde el desarrollo de la flor hasta la supervivencia de las plántulas: desarrollo de los gametos, características de la flor, edad de floración, sistema reproductivo, mecanismo de polinización, dispersión de semillas, germinación de las semillas y supervivencia de las plantas (Barrett, 1998).

2.7.1 Sistemas reproductivos

Se entiende por sistema reproductivo al modo de transmisión de genes desde una generación a la siguiente a través de la reproducción sexual, lo cual está relacionado con la producción de óvulos de la planta y el éxito en la fertilidad del polen (Barret, 1998).

Los sistemas reproductivos no son una propiedad estática de un individuo, población o especie, sino que son dinámicos y sujetos a modificaciones por

muchos factores, donde operan en conjunto los ecológicos y los evolutivos (Barret y Eckert, 1990).

2.7.2 Sistema reproductivo en Ravenia

Urban (1883) citado por Beurton (2008) plantea con relación al sistema reproductivo en *Ravenia* que las plantas presentan flores proteandras, donde las anteras abren antes de que el estilo se alargue y los estigmas se separen, y que se caen cuando empieza la fase femenina, lo que impide la autopolinización.

2.7.3 Dicogamia

Según Stout 1928 el término *Dichogamie* fue utilizado por vez primera por Sprengler en 1793 para designar la condición de una flor hermafrodita cuando sus dos órganos sexuales maduran en diferentes intervalos de tiempo.

Müller (1883) define a la dicogamia como la separación temporal de las funciones sexuales dentro de la flor.

Según Darwin (1897) el propósito de esta diferenciación temporal de las funciones sexuales es para favorecer la fertilización cruzada de plantas distintas y reducir la fertilización intrafloral. En 1993 Bertin y Newman reinterpretan la dicogamia como un mecanismo más general para reducir la interferencia polen-pistilo durante la importación y exportación del polen.

Lloyd y Webb (1986) plantean cinco tipos de dicogamia basados en cinco criterios.

1. Según el orden en que maduran las estructuras reproductivas de la flor, la planta puede ser proteandra o protógina. Cuando la emisión del polen precede a la receptividad estigmática es conocida como proteandra y cuando la presentación del estigma antecede la maduración del polen se considera protógina (Lloyd y Webb, 1986). Según Font Quer (1970) tanto en un caso como en otro, si la dicogamia es perfecta, la flor, aunque

- morfológicamente hermafrodita debe considerarse como unisexual desde el punto de vista fisiológico. Según las unidades florales involucradas la dicogamia puede ser intrafloral e interfloral (Lloyd y Webb, 1986).
- 2. Según las unidades florales involucradas la dicogamia puede ser intrafloral cuando se presenta la separación temporal del polen y el estigma en una misma flor; mientras que en poblaciones de plantas monoicas o subdioicas con flores unisexuales, el polen y el estigma de flores masculinas y femeninas separadas en una planta se presenta en períodos diferentes y se denomina dicogamia interfloral (Lloyd y Webb, 1986).
- 3. Según el grado de separación de presentación del polen y el estigma, la dicogamia puede ser *completa* cuando no hay superposición en la presentación del polen y el estigma en una flor o inflorescencia y es *incompleta* cuando existe coincidencia en el tiempo durante los procesos de maduración del estigma y el polen (Lloyd y Webb, 1986).
- 4. Atendiendo al intervalo entre la maduración del polen y del estigma, los períodos pueden ser de *minutos* como en el caso de numerosas poáceas y crucíferas. En muchas especies tropicales en que las flores abren por un día la sucesión de las fases sexuales ocurre a una escala de *horas*, mientras que en otras flores de mayor duración la presentación de las etapas ocurre en un período de *días*. En especies monoicas con grandes flores e inflorescencias, las flores masculinas y femeninas pueden estar separadas por *semanas*. En el caso de los siconos en moráceas monoicas, la antesis de las flores masculinas y de las femeninas dista de un período de meses (Lloyd y Webb, 1986).
- 5. Según el grado de sincronía de florecimiento dentro de una planta, esta puede clasificarse en dicógama asincrónica cuando los períodos de maduración del estilo y el estigma de diferentes flores no ocurren al mismo tiempo. Cando existe sincronía en la maduración de las estructuras reproductivas entre las flores de una o varias inflorescencias o en partes de inflorescencias, pero no todas en un mismo individuo o rama, se denomina dicogamia hemisincrónica. La dicogamia sincrónica ocurre cuando todas las flores abiertas de una rama o planta están en la misma fase. A su vez la

dicogamia sincrónica presenta varias subclases en dependencia del número de ciclos y morfos. La primera es de ciclos múltiples lo cual ocurre en plantas con varios ciclos de polen- estigma durante una estación floral, este es el tipo más común de dicogamia sincrónica (Lloyd y Webb, 1986). Duodicogamia es el segundo tipo de dicogamia sincrónica la cual implica una secuencia de flores masculinas, flores femeninas, flores masculinas durante la floración de una planta (Stout, 1928). El otro tipo de dicogamia sincrónica es la de un ciclo en la cual todo el polen de una planta se presenta antes del estigma o al revés. La otra variante de la dicogamia sincrónica es la heterodicogamia la cual está constituida por dos morfos, uno solo presenta el polen y el otro presenta el estigma; en varios grupos de angiospermas un morfo es proteándrico y el otro se comporta como protógino, y las flores de los morfos abren al mismo tiempo (Lloyd y Webb, 1986).

2.7.4 Proteandría en Rutaceae

Según Knuth (1908) la proteandría en las flores de *Rutaceae* se presenta de tres formas atendiendo al desarrollo que manifiestan los filamentos durante la maduración de las fases sexuales:

- Los filamentos exponen las anteras una después de otra en un lugar posterior al ocupado por el estigma maduro, y después retorna a su posición original.
 - a) El estilo y el estigma están inmaduros durante la etapa masculina.
 - b) El estilo se desarrolla en la etapa masculina de la flor (aunque a veces imperfecto) pero en un lugar donde es imposible su polinización.
- 2. Los filamentos solo realizan un movimiento, lo cual le otorga simultaneidad. En el estado masculino los filamentos están erectos o un

tanto inclinados hacia una antera; en la etapa femenina están curvados hacia fuera.

- a) Las anteras caen cuando se separan los filamentos. La autopolinización no es posible. (este es el caso del género *Ravenia*)
- b) Las anteras persisten después de que los filamentos se separen.
- 3. Los filamentos no se mueven antes ni después de la liberación del polen.

3. Materiales y métodos

3.1 Área de estudio

El estudio se realiza en tres localidades donde crece el taxón: el Playazo, márgenes de Río Ochoíta (cerca del complejo recreativo Arcoiris) y en Sierra Alta de Agabama, todas localizadas en el municipio Santa Clara y ubicadas dentro de la Reserva florística manejada Sabanas de Santa Clara. (Ver anexo 1)

En el área de estudio seleccionada se desarrolla un bosque de galería sobre serpentinita por lo que gran parte de la flora que lo forma procede de la formación vegetal circundante, el matorral xeromorfo espinoso sobre serpentinita o cuabal.

3.2 Diagnóstico de condiciones ambientales que requiere *Ravenia* spectabilis subsp. *leonis*

Se seleccionaron las variables ambientales, que a consideración del autor, podían ser las determinantes en el establecimiento del taxón objeto de estudio: cercanía a fuentes de agua y características del sustrato, Para determinar la distancia de cada individuo a las fuentes de agua se utilizó una cinta métrica y las mediciones fueron realizadas, una en período de lluvia (julio y agosto) y otra en período seco (marzo), para ello se seleccionaron individuos de las subpoblaciones presentes en El Playazo y márgenes de Río Ochoíta.

Para determinar las características del sustrato se evaluaron: pH en agua, concentración de P2O5 y K2O y porcentaje de materia orgánica. Se tomaron dos muestras de suelo entre 0-20 cm de profundidad en las localidades de Sierra Alta de Agabama, El Playazo, márgenes de Río Ochoíta. A cada muestra se le determinó el pH en agua a través del método potenciométrico en una solución 1:2,5 según Hesse (1971); la concentración de P2O5 y K2O se realizó a través del método de Oniani con solución extractora de H2SO4 0,1N; el fósforo se determinó por colorimetría y el potasio por fotometría de llamas (NRAG 279) y el porcentaje de materia orgánica según la metodología de Walkley Blank.

3.3 Determinación de la flora asociada a *Ravenia spectabilis* subsp. *leonis* Se seleccionaron de forma intencional cinco parcelas de 10 m² cada una, teniendo en cuenta que estuviesen incluidos individuos del taxón objeto de estudio en su interior. Las parcelas quedaron distribuidas, tres en la localidad El Playazo, una en Río Ochoíta y una en Sierra Alta de Agabama. La flora acompañante fue considerada como el total de especies vegetales identificadas dentro del área parcelada.

3.4 Evaluación de parámetros fenológicos y de su biología floral

3.4.1 Estudio fenológico

El estudio se inició con el análisis de datos que ofrecen las etiquetas de los materiales depositados en el herbario ULV y de lo reportado por la bibliografía para tener un conocimiento preliminar de los períodos de floración y fructificación de la especie.

El seguimiento de las variables fenológicas se realizó en 20 individuos pertenecientes a dos subpoblaciones seleccionadas. Para ello, los mismos se identificaron con chapillas enumeradas de forma consecutiva (1-17 en El Playazo, 18-20 en Río Ochoíta).

La toma de datos fenológicos se realizó a intervalos de 15 días, desde abril de 2011 hasta mayo de 2012 con un total de 24 visitas al área de estudio. Las variables fenológicas tenidas en cuenta fueron las sugeridas por Albert *et al.* (1993) modificada por el autor utilizando valores absolutos y no valores en porcentaje. Las variables tenidas en cuenta fueron: cantidad de botones; cantidad de flores y cantidad de frutos. Atendiendo a la duración de flores y frutos se realiza la clasificación siguiendo el criterio de Albert *et al.* (1993).

Se determinan los períodos de mayor producción de botones, flores y frutos, se grafican y se determina la etapa en que mayor cantidad de plantas estaba en la fenofase de producir botones, flores y frutos. Con relación a la variable cantidad de flores, se determinaron cuántas estaban en fase masculina y cuántas en

fase femenina, clasificándose el tipo de dicogamia según el grado de sincronía propuesto por Lloyd y Webb (1986).

3.4.2 Biología floral

Para caracterizar la biología floral se tuvo en cuenta parámetros morfológicos y funcionales. Para las variables morfológicas se seleccionaron un total de 34 flores, de ellas 17 se encontraban en fase masculina y 17 en fase femenina. A las mismas se midió con un pie de rey el diámetro de la corola (dos ejes perpendiculares) y el diámetro de la apertura del pseudotubo de la corola (dos ejes perpendiculares) y la longitud del estilo.

Los parámetros funcionales tenidos en cuenta fueron: longevidad floral, producción y concentración de sacarosa en néctar acumulado por cada día que durase la flor, capacidad de resíntesis de néctar y concentración de sacarosa. Posteriormente se compararon las características del néctar de las flores sometidas a los diferentes tratamientos de extracción. Las concentraciones de sacarosa se determinaron con un refractómetro marca Eclipse y el volumen se midió utilizando capilares de 5 microlitros.

Para determinar la longevidad floral se seleccionaron 19 botones en siete plantas, cada uno de los cuales se aislaron con bolsas de tul y se monitoreó el estado sexual en que se encontraba cada flor cada 24 h hasta que se produjo la caída de la corola.

La producción y concentración de néctar acumulado se determinó en 20 flores que habían sido previamente embolsadas en su fase de botón. El volumen y concentración de néctar se midió en 12 flores en fase masculina (en el segundo día) y en 8 flores en fase femenina (en el tercer día).

La capacidad de resíntesis y concentración de néctar se determinó en nueve flores procedentes de siete plantas diferentes. Estas flores fueron embolsadas en la fase de botón y se midió volumen y concentración de néctar cada 24 horas hasta completar 72 horas. Después de cada medición se embolsaban nuevamente las flores.

El análisis estadístico de las datos morfológicos, síntesis y concentración de néctar y sacarosa acumulado respectivamente y la comparación de las características del néctar de los diferentes tratamientos de extracción se realizó a través de una prueba no paramétrica, prueba de Mann Whitney, previa comprobación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza. Para analizar la variabilidad en los volúmenes de néctar y sus respectivas concentraciones durante la resíntesis se realizó una prueba *t* para una p≤ 0,05. En ambos casos se usó el programa SPSS (Statistical package for social science) versión 18.0 corrido sobre Window.

3.5 Biología reproductiva

Para evaluar el sistema reproductivo de la especie, se seleccionaron 10 ejemplares adultos, 8 pertenecientes a la subpoblación presente en El Playazo y 2 de la localidad márgenes del Río Ochoíta. De cada planta se seleccionaron 7 botones, uno para cada tratamiento. Se asumieron en este trabajo 6 tratamientos recomendados por Bacchetta, *et al.* (2008) (**a-g**), adicionándose un séptimo tratamiento sugerido por (Aizen, 1993); los mismos se relacionan a continuación:

- a) Agamospermia: Los botones, un día antes de la antesis se emascularon y embolsaron sin polinizar, de esta forma se evalúa la capacidad de producción de semillas y frutos por partenocarpia.
- b) Auto-polinización autónoma o espontánea: Se embolsaron los botones y no se polinizaron manualmente las flores, de esta forma se determina la capacidad de producción de frutos y semillas sin la intervención de agentes externos.
- c) Auto-polinización o autogamia: Se embolsaron los botones y cuando la flor se hallaba en la fase femenina se polinizaron manualmente con su propio polen, para determinar si la especie es auto-incompatible.

- **d) Geitono-polinización o geitonogamia:** Los botones se emascularon y embolsaron, las flores se polinizaron manualmente cuando estas se encontraban en estado femenino con polen procedente de otra flor pero del mismo pie de planta.
- **f) Xenogamia:** Los botones se emascularon, embolsaron y polinizaron con polen de otra planta. De esta forma se evalúa la capacidad de producción de frutos y semillas cuando median agentes externos.
- **g) Grupo control:** Se marcaron los botones y se dejaron sin embolsar, para evaluar la capacidad de producción de frutos y semillas bajo condiciones naturales.
- h) Polen limitante: Se aplica un suplemento extra de polen procedente de varias flores, para evaluar deficiencia en suplementación de polen de forma natural.

La emasculación se realizó el día antes de que se produjera la antesis con la ayuda de pinzas finas. Para las polinizaciones manuales se usó un palillo de dientes diferente para cada flor tratada; el polen que se utilizó para los tratamientos **c**, **d** y **h** procedía de flores que se encontraban en fase masculina para garantizar la viabilidad del polen, según la metodología de Dafni (1992) y Bacchetta, *et al.* (2008)

El aislamiento se realizó con bolsas de tela (tul) para evitar la entrada de polinizadores, reducción de la luz, aumento de humedad y temperatura, infestación con hongos o insectos o interferencias en la antesis floral, las bolsas tenían forma rectangular con dimensiones de 4 cm x 7 cm. Estas se dejaron hasta el final de la fructificación.

En los tratamientos que se formó fruto se calculó el índice de fructificación (IFrc) y el índice de fecundación (IFec)

$$IFrc = \frac{nFr}{nFI}$$

nFr: número de frutos nS: número de semillas

nFI: número de flores TO: total de óvulos

El tipo de sistema reproductivo se clasificó según el criterio de Ruiz-Zapata y Arroyo (1978), el cual se determina a través del cálculo del índice de autopolinización autónoma (IAA) y el índice de auto-incompatibilidad (IAI).

 $IFec = \frac{nS}{TO}$

$$IAA = \frac{IFrcAPA}{IFrcX}$$

$$IAI = \frac{IFrcAP}{IFrcX}$$

IFrcAPA: Índice de fructificación de la auto-polinización autónoma

IFrcAP: Índice de fructificación de la auto-polinización

IFrcX: Índice de fructificación de la xenogamia

4. Resultados

4.1 Condiciones ambientales que require *Ravenia spectabilis* subsp. *leonis*

Los individuos que conforman las subpoblaciones estudiadas se desarrollan en lugares con baja exposición solar o a la sombra. En el período lluvioso, los individuos más cercanos a las fuentes de agua se encontraron a una distancia de 89 cm mientras que los más alejados a 330 cm, con una media de 196 cm. Con respecto a la altura del nivel del agua en el período analizado osciló entre 38 cm y 105 cm con una media de 83 cm. Durante el período de sequía la fuente de agua próxima a la población de la localidad El Playazo (Río Primero) se seca, mientras que el cauce del Río Ochoíta es similar en ambos períodos.

Los valores de materia orgánica del suelo en las áreas de estudio están comprendidos entre 3,97- 4,84 %; el pH en agua oscila entre 5,71 y 6,7. Las formas asimilables por las plantas de fósforo y potasio registraron valores entre 0 y 10,87 mg/100g y 7,5 y 14,6 mg/100g respectivamente, los valores se muestran en la tabla I.

Tabla I. Características químicas de los suelos a profundidad de 0-20 cm en las localidades objeto de estudio.

| Localidades | Compuestos orgánicos | Compuestos inorgánicos | | | |
|-------------|----------------------|------------------------|-----------|----------------------------|--|
| | Materia orgánica | pH en | P2O5 | K ₂ O (mg/100g) | |
| | (%) | H ₂ O | (mg/100g) | | |
| Arcoíris | 4,39 | 5,71 | 8,11 | 14,16 | |
| El Playazo | 4,84 | 5,76 | 10,87 | 7,5 | |
| Revacadero | 3,97 | 6,7 | 0 | 7,5 | |

4.2 Flora asociada

Se encuentran asociados a *R. spectabilis* subsp. *leonis* un total de 46 táxones, pertenecientes a 39 géneros y 31 familias. Se identifican 24 especies con

categorías de sinantropismo, de los cuales 8 son extrapófitos, 2 hemiagriófitos— epecófitos intencionalmente introducidos, 1 hemiagriófito intencionalmente introducido, 1 hemiagriófito, 1 holagriófito intencionalmente introducido 1 holagriófito no intencionalmente introducido, 9 intrapófitos pioneros y 1 intrapófito recuperado; los datos anteriores se muestran en el anexo 2.

En el inventario de las parcelas se detectaron 11 endémicos con predominio de los pancubanos tal y como se muestra en la figura 1. Los endémicos quedaron clasificados de la siguiente manera: 4 endémicos pancubanos (End. 1), 2 endémicos de Cuba central y oriental (End. 2), 3 endémicos de Cuba central (End. 3) y 2 endémicos locales (End. 4).

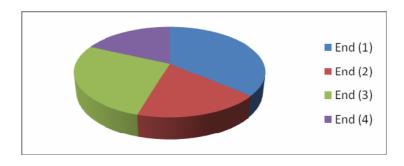


Figura 1: Análisis de los endémicos asociados a R. spectabilis subsp. leonis.

4.3 Evaluación de parámetros fenológicos y de su biología floral

4.3.1 Evaluación fenológica

Las exsiccata pertenecientes a *R. spectabilis* subsp. *leonis* presentes en el herbario correspondían a los meses de marzo, abril, mayo y noviembre y mostraban la fenofase de floración cuando fueron colectadas.

Los estudios *in situ* de las poblaciones sometidas a observación mostraron, tal como se muestra en la figura 2, que el inicio de producción de botones comienza en el mes de mayo, alcanzando un pico máximo en el mes de junio, comienza a descender en el mes de julio hasta alcanzar un valor mínimo en el mes de febrero, aunque nunca llega a ser cero.

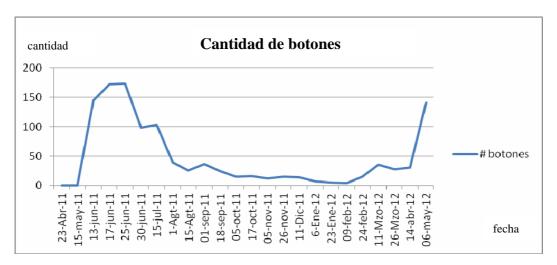


Figura 2: Producción de botones florales por *R. spectabilis* subsp. *leonis* de abril de 2011 a mayo de 2012.

La fenofase de floración se inicia en el mes de junio y alcanza un pico máximo de floración en este mes, en julio comienza a disminuir la floración y de octubre a marzo es cuando menor producción de flores existe, pero nunca llega a ser cero, ver figura 3. Según Sarmiento y Monasterio (1983) y de Albert *et al.* (1993) la especie presenta una floración continua atendiendo a su período de floración, ya que presenta flores todo el año. Aunque no se manifiesta con la misma intensidad en cuanto a la variable cantidad de flores.

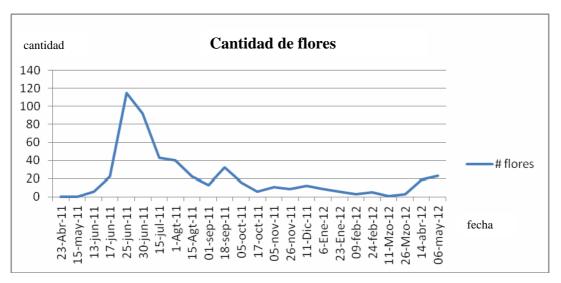


Figura 3: Comportamiento de la fenofase producción de flores de *R. spectabilis* subsp. *leonis* de abril de 2011 a mayo de 2012.

La producción de frutos se inicia en la segunda quincena de junio y alcanza un valor máximo entre los meses de julio y agosto. En el mes de octubre ocurre un segundo pico de fructificación pero no tan alto como el anterior. En el mes de noviembre comienza a disminuir hasta marzo y abril en que alcanza el mínimo valor pudiendo llegar a cero en alguna ocasión, ver figura 4. Siguiendo el criterio de Castillo y Carabias (1982) citado por Albert *et al.* (1993), la duración del período de fructificación es amplio, pues comprende entre 4 y 10 meses.

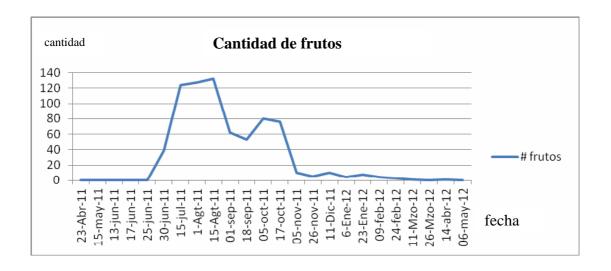


Figura 4: Comportamiento de la fenofase de fructificación de *R. spectabilis* subsp. *leonis* de abril de 2011 a mayo de 2012.

El período en que mayor cantidad de plantas se encontraba con botones (de 5-10 plantas) se detecta entre junio y octubre. La mayor cantidad de plantas florecidas (de 3-10 plantas) se observa en el período entre la segunda quincena de junio y la segunda quincena de julio. A partir de aquí comienza a disminuir la cantidad, aunque siempre van a existir plantas florecidas en la población. A partir de abril de 2012 comienza a aumentar nuevamente la cantidad de plantas florecidas.

La fructificación se inicia en junio y la mayor cantidad de plantas en esta fase comprende el período de julio a octubre y a partir de noviembre comienza a disminuir el número de plantas fructificadas hasta mayo en que no se encontraron plantas fructificadas. Los datos donde se muestran la cantidad de plantas según su fenofase respecto a la fecha se muestran en el anexo 3.

Atendiendo al grado de sincronía la especie es asincrónica pues los períodos de maduración del estilo y el estigma de diferentes flores no ocurren al mismo tiempo tal y como se observa en la figura 5.

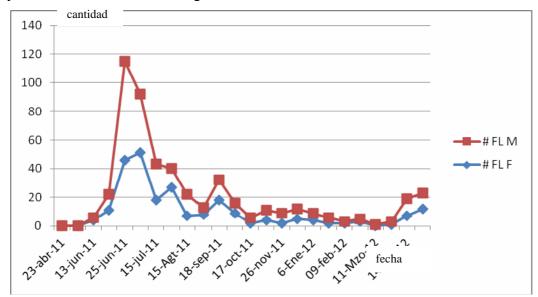


Figura 5: Asincronía en la maduración de las estructuras masculinas (FLM) y femeninas(FLF) de las flores de *R. spectabilis* subsp. *leonis*

4.3.2 Biología floral

Luego del análisis estadístico quedó comprobado que existen diferencias morfológicas entre las fases sexuales de las flores. Todas las variables medidas presentaron diferencias entre sexos, mostrándose con valores superiores las relacionadas con las flores femeninas, excepto el largo del tubo de la corola que se mantuvo constante, los datos se muestran en el anexo 4.

Las flores de *R. spectabilis* subsp. *leonis* presentan una duración de 3 días, en los dos primeros, las flores se comportan como masculinas, las anteras se encuentran unidas a la flor y el polen es liberado. Al tercer día las anteras se caen y se produce el alargamiento del estilo, momento en que la flor se encuentra en fase femenina como se muestra en el anexo 5.

Los volúmenes de néctar acumulados en flores masculinas es de 18,57 μ l \pm 6,35, y en las flores femeninas es de 28,24 μ l \pm 9,58, con una p=0,013 (<0,5) por lo que existen diferencias significativas en el volumen de néctar acumulado.

La concentración de azúcar en néctar acumulado es de 26,33 μ l \pm 2,82 en la etapa masculina y de 21,5 μ l \pm 7,61en el período femenino, ver tabla II.

Tabla II: Análisis del néctar acumulado y sus respectivas concentraciones en la etapa masculina y femenina de las flores de *R. spectabilis* subsp. *leonis*.

| Néctar acumulado | Vol. (µl) | RM | Concentración (%) | RM |
|------------------|-------------|--------|-------------------|--------|
| Etapa masculina | 18,57 ±6,35 | 8,33b | 26,33 ±2,82 | 11,91a |
| Etapa femenina | 28,24 ±9,58 | 13,75a | 21,5 ±7,61 | 8,38b |

Vol: medias del volumen, RM: rango de medias, Concentración: medias de la concentración de sacarosa.

Al período masculino corresponden los mayores valores de volumen y concentración de sacarosa en néctar durante los procesos de resíntesis, los datos analizados se muestran en la tabla III.

Tabla III: Análisis del volumen y el néctar resintetizado según la fenofase sexual

| Fenofase sexual | Masculina | Femenina |
|---------------------|-------------|-------------|
| X Vol. (μl) | 24,12 ±5,19 | 14,89 ±2,69 |
| X Concentración (%) | 17 ±2,48 | 13,57 ±2 |

El volumen total de néctar producido es significativamente mayor en las flores que se realizaron extracciones diarias ("extraídas") respecto a las que la extracción se realizó únicamente el último día de su fenofase ("no extraídas"). Sin embargo, la cantidad total de azúcar producido es diferente entre los tratamientos, los datos se muestran en la tabla IV.

Tabla IV: Características del néctar de las flores sometidas a los diferentes tratamientos de extracción.

| | Fenofase | masculina | Fenofase femenina | | |
|---------------------|-------------|--------------|-------------------|--------------|--|
| Tratamiento | Vol. (µl) | Concent. (%) | Vol. (µl) | Concent. (%) | |
| Flores extraídas | 24,12 ±5,19 | 17 ±2,48 | 14,82 ±2,69 | 13,57 ±2 | |
| Flores no extraídas | 18,57 ±6,35 | 26,3 ±2,82 | 28,24 ±9,58 | 21,5 ±7,61 | |

4.4 Biología reproductiva

Según el experimento de agamospermia la planta no es capaz de producir frutos y semillas por vía partenocárpica. El experimento de auto-polinización autónoma o espontánea no formó frutos en ninguna flor tratada. Por autopolinización, la planta formó 13 frutos de las 14 flores tratadas, con un total de 120 semillas, lo cual da un índice de fructificación de 0.93 y un índice de fecundación de 0,86. En el tratamiento para medir capacidad de reproducción por geitonogamia se obtuvieron 13 frutos de las 14 flores tratadas, con un total de 118 semillas, por lo que el índice de fructificación es de 0,93 y el índice de fecundación 0,84. En la polinización o xenogamia se produjeron 13 frutos de las 15 flores tratadas y 118 semillas, para un índice de fructificación de 0.87 y un índice de fecundación de 0,79. Fructificaron 12 flores de las 14 seleccionadas para el tratamiento control y produjeron 115 semillas, lo cual equivale a un índice de fructificación de 0,86 y un índice de fecundación de0,96. En las flores que se aplicó un suministro extra de polen, fructificaron las 13 flores tratadas con un total de 128 semillas por lo que su índice de fructificación es 1 y el coeficiente de fructificación es de 0,98; los datos se muestran en la tabla V.

Tabla V: Resultado de los cruzamientos experimentales en *R. spectabilis* subsp. *leonis.*

| Tratamientos | # Flores tratadas | # Frutos | # Semillas | Índice Fructificación | Índice Fecundación |
|------------------------------|----------------------|----------|------------|--------------------------|-----------------------|
| Agamospermia | 12 | 0 | 0 | 0.0 | 0.0 |
| Auto-polinización espontánea | 12 | 0 | 0 | 0.0 | 0.0 |
| Auto-polinización | 14 | 13 | 120 | 0.93 | 0.86 |
| Geitonogamia | 14 | 13 | 118 | 0.93 | 0.84 |
| Xenogamia | 15 | 13 | 118 | 0.87 | 0.79 |
| Control | 14 | 12 | 115 | 0.86 | 0.96 |
| Suplementación | 13 | 13 | 128 | 1.0 | 0.98 |

5. Discusión

5.1 Condiciones ambientales que requiere *Ravenia spectabilis* subsp. *leonis*

En todas las localidades en que se realizó el estudio del taxón se observó que los individuos se desarrollaban en áreas cercanas a fuentes de agua, lo cual puede considerarse como un factor que caracteriza sus requerimientos ecológicos, aspecto importante para cualquier actividad de manejo de la especie o del establecimiento de colecciones para su conservación *ex situ*. Las especies establecidas en este tipo de formación vegetal dependen de su tolerancia a los niveles de humedad del suelo, fluctuaciones en el nivel del agua y duración de las inundaciones (Leyer (2004) citado por Faife (2008)).

La cercanía a las márgenes de los ríos expone a las plantas al impacto de las crecidas, lo cual provoca el arrastre de la materia orgánica que se forma a partir de la descomposición de organismos animales y vegetales, por otra parte los procesos erosivos y denodativos que ocurren en el área provocan desprendimiento de partículas de áreas vecinas que son arrastradas por el agua y el viento y se depositan sobre las márgenes y el lecho del río. Lo anterior, unido a la acción antrópica en el lugar: tala de árboles y ocurrencia de incendios, sobre todo en la época de sequía, pueden ser las causas de los bajos contenidos de materia orgánica del suelo.

Se cumple en este caso lo planteado por Berazaín (1979) de que las especies establecidas en estos ecosistemas están determinadas en gran medida por el tipo de suelo, así como que los valores de pH son evaluados de neutros a ligeramente ácidos, los cuales son característicos de los suelos derivados de serpentinita (Franco *et al.*, 2008). El fósforo asimilable (P2O5) y el potasio asimilable (K2O) se evalúa de bajo coincidiendo con lo planteado por Fundora y Yepis (2000) citado por Franco *et al.* (2008).

5.2 Flora asociada

De los 46 taxones asociados a R. spectabilis subsp. leonis las familias mejor representadas fueron Poaceae con 4, Mimosaceae y Fabaceae con 3, Myrtaceae, Rubiaceae. Clusiaceae. Erythroxylaceae, Pteridaceae. Orchidaceae, Combretaceae y Apocynaceae con 2; mientras que las demás, Anacardiaceae. Lythraceae, Araceae. Theaceae. Euphorbiaceae. Simaroubaceae, Selaginellaceae, Anemiaceae, Dioscoreaceae, Chrysobalanaceae, Burseraceae, Cyperaceae, Agavaceae, Cecropiaceae, Flacourtiaceae, Malvaceae, Asteraceae y Nyctaginaceae solo tienen 1 representante. Estos valores revelan que la diversidad de especies que conviven con el taxón objeto de estudio es alta, no así la riqueza de especies por familia ni de los géneros.

El alto número de especies sinantrópicas identificadas (24 especies) que representan el 52,2 % de las inventariadas dan la medida del alto grado de sinantropismo que sufren las áreas donde se localiza *R. spectabilis* subsp. *leonis* y a su vez la necesidad de trabajar en función de la conservación de la misma; otro elemento a resaltar es la cantidad de especies extrapófitas (que exceden su hábitat) y de intrapófitas pioneras que representan entre ambos el 70,8 % de las especies sinantrópicas, lo cual refuerza la idea de la ocurrencia de alteraciones ecológicas, teniendo en cuenta lo planteado por Faife (2008).

En la localidad El Playazo, el grado de sinantropismo se debe a la tala de árboles con fines maderables (leña y constructivos), la sustitución de ecosistemas naturales por agroecosistemas (plantación de pinos y bambúes), la construcción de viales y trochas cortafuego, todo ello influye en el establecimiento de plantas sinantrópicas unido al arrastre de semillas en su cauce procedentes de otros lugares.

En la localidad Río Ochoíta se presentan las mismas amenazas que en El Playazo, incorporándose el uso de la zona como área de pesca. En la localidad de Revacadero el grado de sinantropismo lo evidencia la presencia de un potrero cercano al área donde habita el taxón, no obstante se observa una menor influencia del hombre.

Asociados a la especie se encontraron 11 endémicos de los cuales 3 son endémicos Cuba central y 2 son endémicos con areal más restringido, por lo que cualquier medida que se tome para la conservación *in situ* de esta especie debe involucrar la conservación de los endémicos que allí se localizan.

5.3 Evaluación de parámetros fenológicos y de su biología floral5.3.1 Fenología

Del análisis de la información que brindan los materiales de herbario, la especie debería estar con botones y/o flores en su estado natural al inicio de la evaluación fenológica realizada en abril de 2011, sin embargo no fue así en la práctica. En el mes de marzo de ese año el área estuvo expuesta a los efectos de un incendio, provocado por la sequía, de lo que se infiere que la ausencia de floración fue determinada por las variaciones ambientales corroborando así lo planteado por Menzel (2000) citado por Dzendoletas *et al.* (2003) de que los patrones fenológicos de las plantas pueden ser indicadores de los cambios ambientales.

En el período de 2012 sí hubo producción de botones y flores en marzo y abril, no ocurrieron incendios provocados por la sequía, coincidiendo las fenofases de esta etapa con lo observado en los materiales de herbario. A partir de abril comienzan a aumentar los niveles de producción de botones y flores, de lo cual se infiere que se cierre un ciclo fenológico.

El hecho de que la fructificación alcance valores muy bajos, de un solo fruto en la población, e incluso ninguno, está acorde a los bajos niveles de floración de los períodos precedentes. Un bajo número de flores provoca una disminución de las visitas de los polinizadores lo cual influye en la fecundación de las flores.

En el período de floración de las plantas no existe sincronía en los estados sexuales de las flores dentro de la población, proceso que permite un sistema de polinización cruzada en la especie y disminuye la probabilidad de autopolinización, la polinización por geitonogamia es posible debido a encontrarse presentes en una misma planta las dos fases florales.

5.3.2 Biología floral

El estado masculino de las flores dura más tiempo que la etapa femenina, fenómeno frecuente en la proteandría lo que indica que la función masculina es mayor que la femenina corroborando lo planteado por Lovett-Doust y Cavers (1982). El incremento del tamaño de las flores en la fase femenina está determinado por la corta duración de esta fenofase y se interpreta como un mecanismo para contrarrestar el efecto de una corta duración de la etapa femenina con el aumento de las dimensiones y la apertura del pseudotubo de la corola; de esta manera ocurre un incremento en las funciones de aclamo de la flor, lo cual determina un aumento de las visitas de polinizadores, facilitando la polinización. Esta inferencia sobre el incremento en la morfología floral se contrapone en parte a la hipótesis planteada por Lovett-Doust y Lovett-Doust (1988) donde le atribuye a la etapa masculina un papel principal, desestimando el papel del incremento de la corola como atrayente floral en la etapa femenina.

Unido a los valores morfométricos y de duración de las fenofases, está el hecho de que durante la etapa femenina las flores siguen sintetizando néctar, lo cual sugiere mayor número de visitas de los polinizadores. En la comparación de los volúmenes de néctar acumulado se encontró un mayor volumen en las flores con fenofases femeninas, esto indica que las flores sintetizan néctar durante este período, sin embargo, las concentraciones de sacarosa no presentan diferencias lo cual indica que se mantiene el mismo tipo de polinizador para la especie. Tanto los volúmenes de néctar contenidos, como las concentraciones de sacarosa cumplen las características de lo requerido para la polinización por colibrí, para el cual sus requerimientos energéticos están entre 0,8 a 23,0 µl y una concentración de azúcar entre 8,4 - 30,1 % tal como plantea Aizen *et al.* (2002).

La extracción repetida cada 24 h manifiesta que las flores son capaces de sintetizar néctar independientemente de que este haya sido extraído, aunque su volumen y concentración disminuyan con la frecuencia de extracción, sin embargo, en esta misma etapa, cuando el néctar se deja acumular, el volumen de este es menor que el que se produce cuando se realizan extracciones repetidas, no así su concentración; por lo que la resíntesis no debe

interpretarse como un coste adicional de energía en lo referido a la resíntesis de sacarosa.

Durante la fase femenina las flores son capaces de resintetizar pasadas 24 h de la extracción una cantidad de néctar mayor que la que se sintetiza cuando no se extrae, por lo que el ritmo de visitas de los polinizadores fuerza la producción de mayores cantidades de néctar. La mayor concentración de sacarosa y volumen de néctar resintetizado en la fase masculina respecto a la femenina apoya parte de la hipótesis de Lovett-Doust y Lovett-Doust (1988) de que las características del néctar como atrayente floral se refuerzan en la etapa masculina.

La producción de néctar constante, aunque en menor cantidad y concentración, según la longevidad floral garantiza la oferta de recompensa floral durante todo el período de vida de la flor. Este hecho ha sido interpretado por Guttian *et al.* (1995) como que los recursos disponibles por cada flor para la producción de azúcar son limitados.

5.4 Biología reproductiva

El hecho de que la planta no produzca frutos por partenocarpia significa que las estructuras florales solo producen frutos por vía sexual, por lo que la polinización (transferencia de polen de las anteras hacia el estigma) es la vía que garantiza la fructificación y formación de semillas de la especie.

La autopolinización espontánea no se produce, lo cual se interpreta como que no hay interferencia (contacto o transferencia de polen de forma espontánea) entre las anteras y el estigma durante el alargamiento del estilo. El índice de autopolinización automática (IAA) es de 0,0 por lo que la planta no es capaz de autopolinizarse de forma espontánea teniendo en cuenta lo planteado por Ruiz-Zapata y Arroyo (1978) que lo enmarca en valores inferiores a 0,2. Esto evidencia una dicogamia muy efectiva al no ocurrir fertilización intrafloral, ya planteada por Darwin en 1897. Esta condición no debe considerarse como una ventaja reproductiva para la especie pues en caso de existir una limitación de polinizadores la misma sería incapaz de reproducirse por vía sexual, de lo que

se puede concluir que es una especie que depende de los agentes polinizadores para su existencia.

La formación de frutos y semillas en la autopolinización manual indican que la planta no ha desarrollado mecanismos fisiológicos de autoincompatibilidad, pues el polen se mantiene viable una vez caídas las anteras, lo cual puede estar influido por el hecho de presentar la planta el fenómeno de la dicogamia del tipo proteandra, vía mediante la cual se evita la fertilización intrafloral (autopolinización), y se promueve la polinización cruzada, pero no la autoincompatibilidad. El índice de autoincompatibilidad resultó ser de 1,0008 un valor por encima de 0,2 por lo que la planta es auto-compatible de acuerdo a lo planteado por Ruiz-Zapata y Arroyo (1978).

La producción de frutos y semillas en el experimento que demostraba la geitonogamia, puede estar asociado con el tipo de dicogamia según el grado de sincronía, en este caso es asincrónica por lo que el hecho de encontrarse en un misma planta flores en las dos fases sexuales no evita que se produzca la geitonogamia. El mecanismo de fructificación por geitonogamia le permite a la especie la posibilidad de reproducirse en caso de que las poblaciones estén reducidas, pues siempre existirían flores en las dos etapas. Este tipo de polinización pudiera evitarse si la planta presentara una dicogamia sincrónica, en que todas las flores de la planta se encontrasen en una misma fase sexual.

La condición de xenógama en *R. spectabilis* subsp. *leonis* sugiere que la actividad de los polinizadores es efectiva y permite mantener un sistema de entrecruzamiento.

La producción de frutos de forma natural es ligeramente menor con respecto a los producidos de forma controlada, no así su índice de fecundación. Esto sugiere que no hay limitación de polen para la producción de frutos y semillas en *R. spectabilis* subsp. *leonis* en su medio natural. También puede significar que los polinizadores son muy efectivos en la transferencia de polen, y de que la alta eficiencia en la producción de frutos puede estar asociada con el bajo

número de óvulos por flor (10), por lo que se requiere depositar una menor cantidad de polen en el estigma para formar las semillas.

6. Conclusiones

- Ravenia spectabilis subsp. leonis es un taxón que requiere de hábitats sombreados, próximos a fuentes de agua, siendo poco exigente con relación a la riqueza de nutrientes y de materia orgánica del suelo, y a las perturbaciones antrópicas.
- 2. La flora acompañante en las áreas muestreadas, hábitat principal de la población que ha sido evaluada como amenazada en la provincia de Villa Clara, corresponde a la flora típica de bosques de galería, con influencia de elementos del cuabal circundante y de elementos antrópicos.
- 3. R. spectabilis subsp. leonis presenta un período floral largo mediado por las condiciones ambientales, sin sincronismo y con superposición de las fases masculina y femenina; en ambas fases sexuales se producen recompensas florales independientemente del ritmo de extracción, variando solamente el volumen de néctar producido sin que esto altere la concentración total de azúcar sintetizado, lo cual garantiza las visitas de los polinizadores.
- 4. La dicogamia intrafloral y de forma asincrónica le ofrece a la especie la capacidad de poderse reproducir aunque exista un bajo número de individuos; los agentes polinizadores garantizan la reproducción sexual ya que de forma autónoma es incapaz de auto-polinizarse y constituye la única vía para garantizar su propagación en el medio natural.

7. Recomendaciones

La aplicación de técnicas integradas *ex situ* – *in situ* para la conservación de un taxón, conlleva a la profundización en gran número de aspectos que es necesario seguir evaluando, entre ellos se recomienda:

- Evaluar tipos de reproducción que utiliza el taxón para su propagación en la naturaleza, enfatizando en experimentos de germinación y posibles vías agámicas y determinando cuales son los polinizadores más efectivos para la especie.
- Conformar un protocolo de conservación para R. spectabilis subsp. leonis, y que este sea incluido en los planes de manejo de Reserva florística manejada Sabanas de Santa Clara, utilizando los resultados del presente trabajo.

Bibliografía

- Albert, D., A. López y M. Roudná (1993): Observaciones fenológicas en árboles tropicales. Consideraciones metodológicas. **Rev. Fontqueria**, 36: 257-263.
- Alain (1974): **Flora de Cuba**, Suplemento. Instituto Cubano del Libro. La Habana. 150 pp.
- Aizen, M. A. (1993): Self-polination shortens flowers lifespan in *Portulaca umbraticola* H.B.K. (Portulacaceae). **International Journal of Plant Science**, 154 (3): 412-415.
- Aizen, M. A.; D. P. Vázquez y C. Smith-Ramirez (2002): Historia natural y conservación de los mutualismos planta-animal del bosque templado de Sudamérica austral. **Revista Chilena de Historia Natural**, 75: 79-97.
- Ashman, T. L. y Schoen, D. J. (1996): Floral longevity: fitness consequences and resource costs. pp. 112-139. En Lloyd, D. G. y Barrett, C. H. (eds.). **Floral Biology**,
- Bacchetta G., A. Bueno, G. Fenu, B. Jimenez-Alfaro, B. Piotto y M. Virevaire (eds.) (2008): **Conservación ex situ de plantas silvestres.** Principado de Asturias/La Caixa, 378 pp.
- Berazaín, R. (1979): Fitogeografía. Universidad de La Habana, 313 pp.
- Berazaín, R. (1981): Reporte preliminar de plantas serpentinícolas acumuladoras e hiperacumuladoras de algunos elementos. **Revista Jard. Bot. Nac.** Univ. Habana, 2 (1): 48-59.
- Berazaín, R.; F. Areces; J. C. Lazcano y L. R. González (2005): **Lista roja de la flora vascular cubana**. –Doc. Jard. Bot. Atlántico, Gijón. 4, 86 pp.
- Barrett, C. H. (1998): The evolution of mating strategies in flowering plants. **Trends in Plant Sciences,** 9: 335-341.
- Barrett, C.H. y C.G. Eckert (1990): Variation and evolution of mating systems in seed plants. pp. 229-254. En: Kawano, S. (ed). **Biological approaches and evolutionay trends in plants**,. London, Academic Press.
- Bertin, R. I. y C. M. Newman (1993): Dichogamy in angiosperms. **The Botanical Review**, 59 (2): 112-152.
- Beurton, C. (2008): Rutaceae. En: Gruter, W. y Rankin, R (eds.). Flora de la República de Cuba. Serie A. Plantas vasculares. Fascículo 14(3). A. R. Gantner Verlag KG, Ruggell, Liechtensdein. 127 pp.

- Borhidi, A. y O. Muñiz (1977): New plants in Cuba II. **Acta Bot. Acad. Sci. Hung**., 18: 29-48.
- Capote, R. y R. Berazaín (1984): Clasificación de las formaciones vegetales de Cuba. **Revista Jard. Bot. Nac.** Univ. Habana, 5 (2): 27-75.
- CITMA (2005): **Estrategia Ambiental Nacional** 2005 2010. Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente. La Habana, 65 pp.
- CITMA (2012): Reglamento para el proceso de elaboración, aprobación, planificación, ejecución y control de los programas y proyectos de ciencia, tecnología e innovación. **Resolución No. 44/2012**. Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente. La Habana, 10 pp.
- Clarke, G. L. (1978): **Elementos de ecología**. Editorial Pueblo y Educación. La Habana, 615 pp.
- Darwin, C. (1897): **The different forms of flowers on plants of same species**. New York D. Appleton and Company, 368 pp.
- Dafni A. (1992): **Pollination Ecology: A Practical Approach**. Oxford University Press. Oxford, 250 pp.
- Dzendoletas, M. A., M. Havrylenko y E. Crivelli (2003): Fenología de plantas en puerto Blest, Parque nacional Nahuel Huapi, Patagonia, Argentina. **Ecología**, 17: 87-98.
- Faegi, K. y L. van der Pijl. (1979): **The principles of pollination ecology**. Pergamon Press. Oxford, 248 pp.
- Faife, M. (2008): Propuesta de manejo de la vegetación del bosque de galería del Jardín botánico de Villa Clara. Tesis presentada en opción al Título Académico de Máster en Botánica. Univ. La Habana, 69 pp.
- Font Quer, P. (1970): **Diccionario de botánica**. Edición Revolucionaria. Instituto del Libro. La Habana, 1 244 pp.
- Fournier, L. A. y C. Charpentier (1975): El tamaño de la muestra y la frecuencia de las observación en el estudio de las características fenológicas de los árboles tropicales. **Turrialba**, 25(1): 45-48.
- Franco, F., I. Castañeda, A. Noa, I. Borroto, R. C. Ríos, C. R. Rodríguez, O. R. Méndez y M. Faife (2008): Informe central del proyecto: Recuperación del núcleo serpentínico del Jardín Botánico de Villa Clara: una contribución a la conservación *ex situ.* 44 pp.

- Guttian, P., L. Navarro y J. Guttian (1995): Efecto de la extracción en la reproducción de néctar en flores de Melittis melissophillum L. (Labiatae). **Anales Jardín Botánico de Madrid**, 52(2): 163-169.
- Hesse (1971): **Texbookof soil chemicals analysis**. Jhon Murray, London, Inglaterra.
- Kunth, Paul. (1908): **Handbook of flower pollination (2).** Oxford at the Calderon press. Oxford, 722 pp.
- León y Alain (1951): **Flora de Cuba 2**, Dicotiledóneas: Casuarinaceae a Meliaceae. Contr. Ocas. Mus. Hist. Nat. Colegio "De La Salle" No 10. La Habana, 465 pp.
- Lloyd, D. G. y C. J. Webb (1986): The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms. I. Dichogamy. **New Zealand Journal of Botany**, 24: 135-162.
- Lovett-Doust, J. y P.B. Cavers (1982): Sex and gender dynamics in Jack-in-the-pulpit, Arisaema triphyllum (Araceae). **Ecology**, 63: 797-808.
- Lovett-Doust, J. y L. Lovett-Doust (1988): Sociobiology of plants. An emerging synthesis. Plant Reproductive Ecology. **Patterns and Strategies**: 5-29.
- Matos, J. (2006): Manual de Manejo de Flora Silverstre, para especialistas y tecnicos de áreas protegidas. Editorial Feijóo. Villa Clara, 242 pp.
- Müller, H. (1883): Fertilization of flowers. London MACMILLAN and CO., 692 pp.
- Nelson, R. (2007): Biología reproductiva de *Amasonia campestris* (AUBL.) Moldenke (Verbenaceae) en Los Llanos Centrales de Venezuela. **Acta Bot. Venez**, 30: 385 -414.
- Noa, A.; I. Castañeda; F. Franco; O. Méndez; J. Matos; C. Ríos; R. Expósito y M. Camacho (2005): **Libro Rojo de Villa Clara (flora extinta y amenazada)**. CD-ROM multimedia ARGOS Software. Editorial Feijóo. ISBN 959 250 220 X.
- Noa, A e I. Castañeda (1998): Flora de las serpentinitas de Santa Clara. **Revista Jard. Bot. Nac.** Univ. La Habana,19: 67-89
- NRAG (1980): Norma Ramal 279 en suelos. **Análisis químico. Reglas generales**. La Habana.
- Roig, J.T. (1965): **Diccionario Botánico de Nombres Vulgares Cubanos**. Tomo1. Editorial Pueblo y Educación. La Habana, 599 pp.
- Ruiz-Zapata T.R. y M. T. K Arroyo (1978): Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. **Biotropica**, 10: 221-230.
- Sarmiento, G. y M. Monasterio (1983): Life form and phenology in: Tropical savannas. Elsevier. **Amsterdam**: 79-108.

Stout, A. B. (1928): Dichogamy in Flowering Plants. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, 55 (3): 141-153.

Anexo 1: Localidades de las subpoblaciones de R. spectabilis subsp. leonis en Santa Clara.



- **Leyenda:** 1: El Playazo
- 2: Río Ochoíta
- 3: Sierra Alta de Agabama

Anexo 2: Listado de especies asociadas a R. spectabilis subsp. leonis

Leyenda Espí EA: Extrapófitos Eamilia Sinantronismo Dietribución Agai HeAg-Epl: Hemiagriófitos –Epecófitos A. Ál intencionalmente introducidos Ant.: Antillana 1: El Playazo End.: Endémicos 2: Río Ochoíta Man

| Anei HeAgl: Hemiagriófitos intencionalmo | _{los} 🔭 Caribe.: Cari | beana 3: (| Sierra Alta de | |
|------------------------------------------|------------------------------------------|---------------------------|---------------------|------------|
| Tabe HoAgl: Holagriófitos intencionalme | | - Coomonal : (| Cosmopolita Ag | abama |
| Phile | otropical [| Ant. | | |
| Phile HEM: Hemiagriófitos | | Ant. | | |
| Roy: HoAgN: Holagriófitos no intenciona | $\boldsymbol{\rho}$ | leotrop.: Paleotropical A | | |
| Rho introducidos | A Pantrp.: Pan | A Pantrp.: Pantropical | | |
| Rurs | Burseraceae | Burseraceae I IAK | | |
| Ceci IAP: Intrapófitos pioneros | Cecropiaceae | - | Neotrop. Neotrp. | |
| Chrysopalanus <i>icaco</i> L. | 4 | Uniysobalanaceae | IAP | Caribe. |
| Callophylum antillanum Britton | 3 | Clusiaceae | EA | Neotrp. |
| Clusia rosea Jacq. | 1, 3 | Clusiaceae | EA | Neotrop. |
| Plumeria clusioides Griseb. | 3 | Clusiaceae | - | End.(2) |
| Bucida buceras L. | 3 | Combretaceae | - | Caribe. |
| Bucida ophiticola Bisse | 2 | Combretaceae | - | End.(3) |
| Cyperus alternifolius L. | 3 | Cyperaceae | HeAg-Epl | Paleotrop. |
| Dioscorea tamoidea Griseb. | o. 2 Dioscoriaceae | | | Ant. |
| Erythroxylum havanense Jacq. | 1, 2, 3 | Erythroxylaceae | EA | End.(1) |
| Erythroxylum minutifolium Griseb. | 3 | Erythroxylaceae | - | Ant. |
| Gymnanthes albicans (Griseb.) Urb. | 1 | Euforbiaceae | - | End.(1) |
| Brya ebenus (L.) DC. | 3 | Fabaceae | EA | Ant. |
| Harpalyce macrocarpa Britton & P. Wilson | 3 | Fabaceae | - | End.(5) |
| Mucuna pruriens (L.), P.D.C. | 3 | Fabaceae | | Pantrop. |
| Casearea spinescens (Sw.) Griseb. | 3 | Flacourtiaceae | EA | Caribe. |
| Ginoria americana Jacq. | 1 | Lythraceae | - | End.(1) |
| Urena lobata L. | 3 | Malvaceae | HoAgl | Pantrop. |
| Dichrostachys cinerea (L.) Wight et Arn. | 1, 3 | Mimosaceae | HeAg-Epl | Paleotrop. |
| Pithecellobium arboreum (L.) Urb. | 1 | Mimosaceae | - | Caribe. |
| Eugenia axillaris (Sw.) Willd. | 1, 3 | Myrtaceae | IAP | Caribe. |
| Syzygium jambos (L.) Alston in Trimen | 1 | Myrtaceae | HeAgl | Paleotrop. |
| Pisonia aculeata L. | 3 | Nyctagynaceae | IAP | Cosmopol. |
| Oeceoclades maculata (Lindl.) Lindl. | 3 | Orchidaceae | HoAgN | Neotrop. |
| Vanilla barbellata Rchb.F. | 2 | Orchidaceae | - | Ant. |
| Arthrostylidium capillifolium Griseb. | 2 | Poaceae | IAP | Ant. |
| Arthrostylidium urbanii Pilger | 1, 3 | Poaceae | - | End.(2) |
| Laciasis divaricata (L,) Hitchc. | 3 | Poaceae | IAP | Neotrop |
| Pharus lappulaceus Aubl. | 2 | Poaceae | <u>-</u> | Neotrop. |
| Adiantum tenerum Sw. | 1 | Pteridaceae | EA | Caribe. |
| Adiantum villosum L. | 1 | Pteridaceae | - | Caribe. |
| Exostema longiflorum (Lamb.) R. & S. | 1 | Rubiaceae | _ | Ant. |
| Psychotria horizontalis Sw. | chotria horizontalis Sw. 1 | | IAP | Ant. |
| Rondeletia odorata Jacq. ssp. odorata | ndeletia odorata Jacq. ssp. odorata 1, 3 | | EA | End.(3) |
| Selaginella serpens (Desv.) Spring | 1 | Selaginellaceae | - | Ant. |
| Picramnia pentandra Sw. | 1 | Simaroubaceae | IAP | Caribe. |
| Ternstroemia peduncularis DC. | 1 | Theaceae | IAP | 43 Ant. |

Anexo 3: Relación de cantidad de plantas con botones, flores y frutos en el período comprendido entre abril de 2011 a mayo de 2012.

| Fecha | No. de plantas | No. de plantas | No. de plantas | | |
|--------------|----------------|----------------|----------------|--|--|
| | con botones | con flores | con frutos | | |
| 23-abr-11 | 0 | 0 | 0 | | |
| 15-may-2011 | 0 | 0 | 0 | | |
| 13-jun-2011 | 5 | 1 | 0 | | |
| 17-jun-2011 | 5 | 3 | 0 | | |
| 25-jun-2011 | 10 | 8 | 0 | | |
| 30-jun-2011 | 5 | 10 | 3 | | |
| 15-jul-2011 | 10 | 4 | 8 | | |
| 1-agst-2011 | 8 | 7 | 8 | | |
| 15-agst-2011 | 6 | 3 | 6 | | |
| 1-sept-2011 | 9 | 7 | 9 | | |
| 18-sept-2011 | 5 | 9 | 9 | | |
| 5-oct-2011 | 5 | 5 | 7 | | |
| 17-oct-2011 | 5 | 4 | 8 | | |
| 5-nov-2011 | 4 | 4 | 3 | | |
| 26-nov-2011 | 4 | 3 | 2 | | |
| 11-dic-2011 | 4 | 3 | 4 | | |
| 6-ene-2012 | 3 | 4 | 3 | | |
| 23-ene-2012 | 3 | 2 | 2 | | |
| 9-feb-2012 | 2 | 1 | 3 | | |
| 24-feb-2012 | 5 | 1 | 2 | | |
| 11-mzo-2012 | 5 | 1 | 1 | | |
| 26-mzo-2012 | 5 | 2 | 0 | | |
| 14-abr-2012 | 10 | 4 | 1 | | |
| 6-may-2012 | 14 | 5 | 0 | | |

Anexo 4: Análisis de las variaciones morfológicas entre las fases sexuales de las flores de *R. spectabilis* subsp. *leonis*

| Etapa sexua I | DHC (mm) | RM | DVC (mm) | RM | DHAPC (mm) | RM | DVAPC (mm) | RM | LE (mm) | RM |
|---------------------|-------------|--------|-------------|--------|---------------|--------|---------------|--------|------------|--------|
| M | 33,94 | 13,24b | 35,05 | 11,91b | 1,07 | 9,41b | 1,85 | 9,09b | 5,82 ±1,32 | 9,32b |
| | ±3,83 | | ±3,86 | | ±1,32 | | ±0,49 | | | |
| F | 36,85 | 21,7a | 38,82 | 23,09a | 2,52 | 25,59a | 4,10 | 25,91a | 9,14 ±1,14 | 25,68a |
| | ±2,4 | | ±2,15 | | ±0,48 | | ±0,69 | | | |

Leyenda

M: Masculino F: Femenino

DHC: Diámetro horizontal de la corola DVC: Diámetro vertical de la corola

DVAPC: Diámetro vertical de la apertura del pseudotubo de la corola DHAPC: Diámetro horizontal de la apertura del pseudotubo de la corola

LE: Largo del estilo RM: Rango de medias

Anexo 5: Comportamiento de las fenofases florales en R. spectabilis subsp. leonis.

| No. | No. | Fases sexuales por días | | | | | | |
|--------|-----|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|--|
| planta | bot | Día 1 | Día 2 | Día 3 | Día 4 | Día 5 | Día 6 | |
| 1 | 1 | М | M | F | CC | - | - | |
| 1 | 2 | М | M | F | CC | - | - | |
| 1 | 3 | - | M | M | F | CC | - | |
| 1 | 4 | - | M | M | F | CC | - | |
| 4 | 1 | М | M | M | F | CC | - | |
| 11 | 1 | - | M | M | F | CC | - | |
| 12 | 1 | - | - | M | M | F | CC | |
| 12 | 2 | - | - | M | M | F | CC | |
| 15 | 1 | - | M | M | F | CC | - | |
| 18 | 1 | М | M | F | CC | - | - | |
| 18 | 2 | М | M | F | CC | - | - | |
| 18 | 3 | М | M | F | CC | - | - | |
| 18 | 4 | - | M | M | F | CC | - | |
| 18 | 5 | - | M | M | F | CC | - | |
| 18 | 6 | - | М | М | F | CC | - | |
| 18 | 7 | - | М | M | F | CC | - | |
| 18 | 8 | - | М | М | F | CC | - | |
| 20 | 1 | М | М | F | CC | - | - | |
| 20 | 2 | - | М | М | F | CC | - | |

Leyenda

CC: caída de la corola

M: Flores en fase masculina F: Flores en fase femenina

No. planta: Número de la etiquetas de las platas No. bot: Número del botón en cada planta