

**UCLV**  
Universidad Central  
"Marta Abreu" de Las Villas



**FCA**  
Facultad de  
Ciencias Agropecuarias

Departamento de Biología

## TRABAJO DE DIPLOMA

Título del trabajo: Identidad taxonómica de *Guettarda roigiana* Borhidi & O. Muñiz (*Rubiaceae*), especie endémica de Cuba Central

Autor del trabajo: Erisbel Echevarría Herrera

Tutores del trabajo: Dr. C. Idelfonso Castañeda Noa

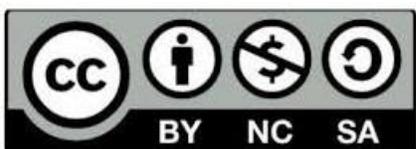
MSc. Lilian Martínez Pérez

Santa Clara, junio 2018  
Copyright©UCLV

Este documento es Propiedad Patrimonial de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, y se encuentra depositado en los fondos de la Biblioteca Universitaria “Chiqui Gómez Lubian” subordinada a la Dirección de Información Científico Técnica de la mencionada casa de altos estudios.

Se autoriza su utilización bajo la licencia siguiente:

**Atribución- No Comercial- Compartir Igual**



Para cualquier información contacte con:

Dirección de Información Científico Técnica. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Carretera a Camajuaní. Km 5½. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP. 54 830

Teléfonos.: +53 01 42281503-1419

**Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas**

**Facultad de Ciencias Agropecuarias**

**Departamento de Biología**



## **Trabajo de Diploma**

# **Identidad taxonómica de *Guettarda roigiana* Borhidi & O. Muñiz (*Rubiaceae*), especie endémica de Cuba Central**

**Autor: Erisbel Echevarría Herrera**

**Tutores: Dr. C. Idelfonso Castañeda Noa**

**MSc. Llilian Martínez Pérez**

**Santa Clara, 2018**



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

## Trabajo de Diploma

# Identidad taxonómica de *Guettarda roigiana* Borhidi & O. Muñiz (*Rubiaceae*), especie endémica de Cuba Central

**Autor: Erisbel Echevarría Herrera**

**Tutores: Dr. C. Idelfonso Castañeda Noa\***

**MSc. Lillian Martínez Pérez\*\***

\* Centro de estudios Jardín Botánico de Villa Clara. Carretera a Camajuaní  
Km 5,5 Santa Clara, Villa Clara. Teléfono: (042) 211861.

email: idelfonsocn@uclv.edu.cu

\*\* Centro de estudios Jardín Botánico de Villa Clara. Carretera a Camajuaní  
Km 5,5 Santa Clara, Villa Clara. Teléfono: (042) 211861.

email: llilian@uclv.cu

**Santa Clara, 2018**

*No podemos engañar a la naturaleza,  
pero sí podemos ponernos de acuerdo  
con ella.*

*Albert Einstein.*

A mis padres...

*Una buena madre es la raíz de la bondad y la humildad, un buen padre es una fuente de inspiración y autocontrol. Mery y Fidel, ellos fueron mis primeros maestros mis primeros amigos y estarán siempre a mi lado. Gracias a ustedes estoy hoy aquí, sacrificaron mucho de sus vidas sin pensarlo para que yo pudiera construir la mía, no alcanza una vida para agradecer lo que han hecho en 23 años por mí. Son los mejores Padres del universo, y anuqué tal vez por mi forma de ser no escuchen mucho está frase, me siento muy orgulloso de tenerlos.*

*Dicen que una abuela es una maravillosa madre con muchos años de práctica y un abuelo es un hombre viejo por fuera pero que aún es un niño por dentro. A Sara y Tere a Humberto y Moisés. Por criarme y darme el cariño que solo un abuelo puede dar. Por todos los consejos que algunas veces ignore, pero que tarde o temprano la vida me demostró que tenían toda la razón del mundo. Por consentirme y muchas veces permitirme y hacer conmigo lo que no le permitieron e hicieron con sus hijos. Rube y a Olga por estar conmigo desde que nací a ustedes también le debo algo de lo que soy hoy. Por eso y más gracias*

*La familia es una de las obras maestras de la naturaleza muchas gracias a todos los que de una forma u otra han tenido que ver no solo con la preparación de este trabajo sino también en mi crecimiento como persona. Agradecimientos especiales a mi tío Merito por correr conmigo en el motor más de 500 km entre todos los viajes sin poner un pero. A mi prima Lisbet y Fernando por abrirme las puertas de su casa en más de una ocasión y sin preguntar por cuantos días. A todo el familión de Cienfuegos por recibirme en esa provincia que me gusta tanto con la calidez y el amor de alguien a quien vez a diario. A Marilyn, Celestino y Margarita familiares que por el parentesco me quedan un poco lejos, pero a los que les tengo un gran aprecio y sin los cuales mi paso por la universidad no hubiera sido imposible, pero si más difícil.*

*Un verdadero amigo es alguien que te conoce tal como eres, te acompaña en tus logros y tus fracasos, celebra tus alegrías, comparte tu dolor y jamás te juzga por tus errores. A Eily quien considero mi mano izquierda (porque soy zurdo), mi mejor amiga y la hermana que no tengo. Nos conocimos oficialmente en segundo año y para mí me parece que es de siempre. Gracias porque sin ella probablemente este día no hubieras sido de esta forma.*

*Por ser mi más severo tribunal a la hora de decirme la verdad en la cara, pero por ser mi más firme apoyo en cualquier circunstancia. Por ser una persona que admiro y que ha hecho que me supere cada vez más (aunque yo no se lo diga para que no se infle). Por no dejar que me aburra porque siempre tiene algo para inventar y no importa lo lejos que estemos siempre busca la manera de involucrarme. Por los buenos momentos y los no tan buenos, por los felices y los no tan felices y por nunca dejar de sorprenderme Gracias.*

*Un amigo es la persona que nos muestra el rumbo y recorre con nosotros una parte del camino. Esos son todos a los que he tenido el privilegio y la suerte de conocer. De forma especial a Malena quien ha estado conmigo en muchos momentos. A mis compañeros de cuarto Fidel (quien cuaballo conmigo en varias ocasiones), Gabriel, Leo, Ariandy, David (que venimos cargando uno con el otro desde 1er grado) gracias por ser mi familia durante las 27600 h aproximadamente que duró la universidad. Agradezco a todos mis compañeros de aula con los que espero coincidir en la vida otra vez. Y a los doteros no pudieron hacerme jugar*

*Deje para ultimo (y no por ser menos importantes) a las personas que estuvieron conmigo desde que este trabajo era solo una idea mis tutores Idelfonso y Lillian. Idelfonso con el que cogí mi primer dos en la universidad, a quien considero un ejemplo como persona y como profesional, la persona que cuando yo no estaba muy convencido de la investigación que estaba haciendo bastaba sentarme a conversar con él y salía pensando que me iban a dar el Nobel. Me siento muy agradecido de que hayas confiado en mí para trabajar y espero haber estado a la altura. A Lillian mi tutora y amiga a la que consultaba para cualquier decisión importante durante el trabajo antes de ir a hablar con El Jefe para no soltarle ninguna barbaridad. Gracias a los dos por dedicarme algo de su tiempo que yo sé que es un recurso limitado en especial para Idelfonso Por todo les estoy Agradecido.*

*Les agradezco a todos los trabajadores del Jardín botánico que me acogieron como uno más de ellos y a todos los profesores que me impartieron clases durante la carrera de los cuales siempre se aprende. A mis vecinos por su preocupación a Tony Irian y mi amiga de toda la vida Hany*

*A TODOS.....GRACIAS.*

## RESUMEN

Las especies *Guettarda clarensis* Britton, *G. calytrata* A. Rich. y *G. roigiana* Borhidi & O. Muñiz conforman un complejo en la taxonomía de este género en las serpentinias de Santa Clara; lo que infiere el origen hibridógeno de esta última especie. Basado en estudios morfológicos, anatómicos y de fenología reproductiva se ofrece el resultado de los caracteres intermedios que se presentan en *G. roigiana*; con ello esclarecer la identidad taxonómica de esta especie. Las dimensiones y forma de la estípula, del pecíolo y de la lámina foliar, unido al curso de las venas secundarias y el patrón de reticulación de las venas terciarias; así como la presencia de indumento y deposiciones granulares de ceras epicuticulares, son caracteres diagnósticos morfológicos de carácter vegetativo, que unido a las longitudes intermedias de las estructuras florales definen a *G. roigiana*. Como aspecto novedoso se describe la morfología floral de la especie, que no aparece en su descripción original, donde también se da a conocer el carácter de heterostilia. La estructura anatómica del haz vascular en el pecíolo, con la presencia de cristales arenosos de oxalato de calcio en las células del parénquima, la epidermis con cutícula de grosor medio e hipodermis de dos estratos celulares, complementan los caracteres morfológicos de *G. roigiana*. El periodo de floración de esta especie coincide con *G. clarensis* y *G. calytrata*, lo que pudiera posibilitar el cruce entre ellas. En las observaciones se apreció el desarrollo de frutos.

**Palabras clave:** anatomía, fenología reproductiva, flora de Cuba, *Guettarda*, morfología.

## ABSTRACT

The species *Guettarda clarensis* Britton, *G. calyptrata* A. Rich. and *G. roigiana* Borhidi & O. Muñiz form a complex in the taxonomy of this genus in the serpentines of Santa Clara; what infers the hybridogenic origin of this last one. Based on morphological, anatomical and reproductive phenology studies, results are offered of the intermediate characters presented in *G. roigiana*; with this we intend to clarify the taxonomic identity of this species. The dimensions and shape of the stipule, the petiole and the leaf blade, together with the course of the secondary veins and the cross-linking pattern of the tertiary veins; as well as the presence of granular deposition and deposition of epicuticular waxes, are morphological diagnostic characters of vegetative character, which together with the intermediate lengths of the floral structures define *G. roigiana*. As a novelty aspect, the floral morphology of the species is described, which does not appear in its original description, where the character of heterostilia is also known. The anatomical structure of the vascular bundle in the petiole, with the presence of sandy calcium oxalate crystals in the cells of the parenchyma, the epidermis with cuticle of medium thickness and hypodermis of two cellular strata, complement the morphological characters of *G. roigiana*. The flowering period of this species coincides with *G. clarensis* and *G. calyptrata*, which could make it possible to cross them. During the process of observation the development of fruits were easily appreciated.

**Key words:** anatomy, reproductive phenology, flora of Cuba, *Guettarda*, morphology.

## Tabla de contenidos

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	3
2.1. Influencia de la serpentina en la riqueza de especies de la flora cubana .....	3
2.2. El matorral xeromorfo espinoso sobre serpentina. Sus particularidades en el distrito <i>Claraense</i> .....	3
2.2.1. Afloramiento de serpentina de Motembo .....	4
2.2.2. Afloramiento de serpentina de Santa Clara .....	5
2.2.3. Afloramiento de serpentina Minas de Jarahueca-San Felipe-Florencia .....	6
2.3. Taxonomía, características botánicas y distribución del complejo <i>Guettarda clarensis</i> , <i>Guettarda calyptrata</i> y <i>Guettarda roigiana</i> .....	6
2.2.1. <i>Guettarda clarensis</i> Britton .....	6
2.3.2. <i>Guettarda calyptrata</i> A. Rich. ....	7
2.3.3. <i>Guettarda roigiana</i> Borhidi & O. Muñiz .....	8
2.4. Estudios morfológicos y anatómicos en <i>Rubiaceae</i> .....	8
2.5. Elementos sobre biología reproductiva. Sus particularidades en <i>Rubiaceae</i> .....	10
2.5.1. Heterostilia .....	10
2.5.2. Sistema de incompatibilidad.....	11
2.5.3. Características de las flores heterostilas .....	12
2.5.4. Fenología .....	12
2.5.5. Sincronía.....	13
2.5.6. Influencia de los factores ambientales en la fenología .....	14

<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	15
3.1. Estudios de morfología y anatomía.....	17
3.1.1. Estudio morfológico de la hoja.....	17
3.1.2. Estudios de la morfología floral .....	19
3.1.3. Estudios de la morfología del fruto .....	20
3.1.4. Estudios de anatomía foliar .....	20
3.1.5. Integración de los estudios de caracteres vegetativos y sexuales .....	21
3.2. Estudio de la fenología reproductiva .....	22
<b>4. RESULTADOS</b> .....	23
4.1. Caracterización de la morfología y anatomía foliar en <i>Guettarda clarensis</i> , <i>Guettarda calyptrata</i> y <i>Guettarda roigiana</i> .....	23
4.1.1. Morfología foliar .....	23
4.1.2. Caracterización de la morfología floral .....	29
4.1.3. Caracterización de la morfología del fruto .....	33
4.1.4. Resultados de los estudios de micromorfología .....	35
4.1.5. Anatomía del pecíolo y de la lámina foliar.....	37
4.2. Estudio de la fenología reproductiva .....	39
<b>5. DISCUSIÓN</b> .....	40
Caracteres vegetativos intermedios de importancia en la delimitación de <i>Guettarda roigiana</i> .....	40
El indumento y las ceras epicuticulares como evidencia de xeromorfía e importancia taxonómica en <i>Guettarda roigiana</i> .....	41
La anatomía del pecíolo y de la lámina foliar como evidencia de caracteres intermedios en <i>Guettarda roigiana</i> .....	41

El hábito de vida gregario en <i>Guettarda roigiana</i> .....	42
Fenología reproductiva y heterostilia.....	42
<b>6. CONCLUSIONES</b> .....	45
<b>7. RECOMENDACIONES</b> .....	46
<b>8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	47

## 1. INTRODUCCIÓN

Cuba posee en su territorio una excepcional riqueza y diversidad de la flora, condicionadas, principalmente por el mosaico geológico y edáfico que presenta el archipiélago (Borhidi, 1996). Esta compleja distribución geológica propició que la isla fuera origen y centro de diversificación de numerosos géneros de plantas vasculares, en los que se agrupan cerca de 7500 especies (González-Torres *et al.*, 2016). De esta forma, el archipiélago cubano se ubica como el territorio insular con la flora más rica a nivel mundial y la primera isla en número de plantas por kilómetro cuadrado. Por otro lado, más del 50% de la flora es endémica, valor que posiciona a Cuba como una de las siete islas con mayor endemismo del planeta (Borhidi, 1996; Whittaker y Fernández-Palacios, 2007).

Según Borhidi (1996) uno de los hábitats más ricos en cuanto endemismo de plantas en Cuba son las serpentinas. El grado de endemismo de la flora que se encuentra sobre este sustrato puede alcanzar alrededor del 75%, a pesar de que serpentina solo ocupa el 7% del territorio nacional, en ella están representados el 14,6% del total de la flora y el 31,2% de los endémicos. Este autor plantea que el alto endemismo puede explicarse por la variabilidad en la composición de minerales de este tipo de roca; como consecuencia de este fenómeno áreas de serpentinas vecinas tienen flóculas bastante diferentes, lo que provoca que la especiación sea un proceso común en las formaciones vegetales que están presentes.

Algunos géneros en la flora de Cuba como *Coccoloba*, *Buxus*, *Malpighia* y otros que contribuyen al alto endemismo con un significativo número de especies, sugieren que sea probablemente el resultado de una radiación en la isla (Castañeda-Noa, 2012). En este sentido, *Guettarda* puede constituir otro de los ejemplos por el alto número de especies endémicas en Cuba. En las serpentinas del distrito *Claraense* están presentes dos especies endémicas estrictas: *Guettarda clarensis* Britton y *G. roigiana* Borhidi & O. Muñiz; otras especies endémicas de este género que aparecen en los inventarios realizados en este distrito son *Guettarda calyptrata* A. Rich., *G. echinodendron* Wr. ex Sauv., *G. lanuginosa* Urb. & Ekman, y *G. rigida* A. Rich. (Borhidi y Muñiz, 1971; Noa y Castañeda, 1998; Franco *et al.*, 2004; Franco *et al.*, 2016; Echemendía y Castañeda, 2017). Borhidi y Muñiz

(1971), en la descripción de *G. roigiana* como una nueva especie, refieren cierta afinidad con *G. clarensis* y su probable origen hibridógeno entre *G. clarensis* y *G. calyptrata*.

Según Castañeda-Noa (*com. pers.*), en las poblaciones donde crecen los posibles parentales de *Guettarda roigiana*, se observan individuos que aparentan caracteres vegetativos intermedios que pueden coincidir con la especie que se describió bajo ese nombre. Estos individuos se caracterizan además por el hábito de vida gregario, lo que sugiere formas de multiplicación vegetativa como respuesta a posible limitante de reproducción sexual. Esta situación, infiere la siguiente interrogante ¿es *Guettarda roigiana* una buena especie o es un híbrido entre *Guettarda clarensis* y *Guettarda calyptrata*?

Como **hipótesis** de trabajo se plantea lo siguiente:

La integración de estudios morfológicos, anatómicos y de fenología reproductiva en *Guettarda roigiana*, pudiera elucidar la identidad taxonómica de esta especie.

Para evaluar la hipótesis se plantean los siguientes objetivos de trabajo:

### **Objetivo general**

Determinar los caracteres de *Guettarda roigiana* que se expresan de forma intermedia con respecto a *Guettarda clarensis* y *Guettarda calyptrata*.

### **Objetivos específicos**

1. Delimitar los caracteres diagnósticos correspondientes a *Guettarda roigiana*, a partir del estudio morfológico y anatómico en las estructuras vegetativas y sexuales.
2. Caracterizar la fenología reproductiva de *Guettarda roigiana* teniendo en cuenta la floración y la fructificación.

## **2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. Influencia de la serpentina en la riqueza de especies de la flora cubana**

La flora cubana está compuesta por cerca de 7500 especies de plantas vasculares, de las cuales el 53% son endémicas (González-Torres *et al.*, 2016). La riqueza de especies y el endemismo en la vegetación sobre serpentina son muy altos. Esta formación representa el 15% del total de la flora y el 32% de los endémicos; sin embargo solo ocupa el 7% del territorio nacional (Borhidi, 1996; Iturralde *et al.*, 2005).

Según Iturralde *et al.*, (2005) Cuba es una región especial para el estudio de la flora de serpentina por la presencia de límites geográficos bien marcados y fácilmente reconocibles. Los principales afloramientos de este tipo de vegetación se encuentran en Cajalbana, desde La Habana a Matanzas, Motembo, alrededores de Villa Clara, norte de la ciudad de Camagüey, y en las cercanías de la ciudad de Holguín (Berazaín, 1979; Capote y Berazaín, 1984; Borhidi, 1996). En estos afloramientos las comunidades vegetales que se establecen se diferencian por su antigüedad, evolución paleogeográfica, características del suelo y el clima (Borhidi, 1996).

La vegetación que se desarrolla sobre serpentina tiene como rasgos fundamentales la fisionomía arbustiva y el xeromorfismo. El suelo es del tipo fersialítico ferromagnésico y esquelético natural con un alto contenido de elementos pesados como níquel y cromo que son tóxicos para las plantas (Borhidi, 1996). Este sustrato se caracteriza por una elevada presión osmótica que provoca un alto poder de retención del agua, una topografía variada y un drenaje bien establecido. Estas características traen como consecuencia una sequía fisiológica que constituye el principal factor limitante para la vida de las plantas, a pesar de los altos niveles de precipitaciones anuales en estas zonas (Berazaín, 1979; Borhidi, 1996).

### **2.2. El matorral xeromorfo espinoso sobre serpentina. Sus particularidades en el distrito *Claraense***

Berazaín (1979), Capote y Berazaín (1984) y Borhidi (1996) diferencian dos tipos de matorrales entre la vegetación sobre serpentina. Uno de ellos es el matorral xeromorfo sub-espinoso sobre serpentina, llamado charrascal y el otro es el matorral xeromorfo espinoso sobre serpentina, conocido comúnmente como cuabal. Este último se desarrolla

sobre suelos esqueléticos o poco desarrollados, por lo que manifiesta ciertos rasgos de hiperxerofitismo. Según estos autores, el matorral xeromorfo espinoso sobre serpentina es una formación con un estrato arbustivo denso, de 2-3 m de altura. Presenta algunos árboles emergentes que pueden alcanzar hasta 6 m de alto y un estrato herbáceo abierto donde predominan los geófitos, caméfitos y sub-arbustos. Por lo general las plantas leñosas son espinosas y micrófilas, las lianas, epífitas y gramíneas son xeromorfas, mientras que las suculentas son poco abundantes.

Samek (1973) consideró a los afloramientos de serpentina de Motembo y Santa Clara como dos distritos fitogeográficos diferentes, a los cuales nombró Motembo y Serpentinias de Santa Clara, respectivamente. Sobre estos distritos, planteó que las Serpentinias de Santa Clara constituye el núcleo florístico más importante por su extensión territorial desde Sagua la Grande hasta Chambas y por la abundancia de especies.

Por su parte Borhidi y Muñiz (1986) consideran a los afloramientos de serpentinias de Motembo y de Santa Clara como una sola unidad fitogeográfica, el distrito *Claraënse*. En la caracterización de este distrito los autores plantean que se encuentra formado por áreas de serpentina con cordilleras emergentes que llegan a alcanzar los 450 m s. n. m en la Sierra de Agabama. Se extiende desde Motembo en Villa Clara, hasta Florencia en Ciego de Ávila, donde los elementos serpentínicos se dividen en parches que difieren en tamaños y distancia entre sí. Sin embargo, aseveran que a pesar del aislamiento que se presenta entre ellos, la flora es bastante uniforme y se caracteriza por la presencia de endémicos pancubanos y locales.

### **2.2.1. Afloramiento de serpentina de Motembo**

Desde el punto de vista florístico León (1946) reconoce a Motembo entre los centros más importantes del eje ultrabásico central, para la migración de especies de la flora entre Cuba Oriental y Occidental. En su caracterización que la existencia de flóculas especializadas de alto endemismo, que incluye a taxones estrictos de la localidad.

Franco *et al.* (2004), en sus contribuciones al conocimiento de la flora de Motembo, han dado a conocer 233 taxones de plantas vasculares, agrupados en 168 géneros y 66 familias. En los registros se relacionan 115 taxones infragenéricos endémicos, lo que representa el

49,4% del total de especies. Las relaciones florísticas entre Motembo y otros afloramientos de Cuba Central (Franco *et al.*, 2016) se manifiestan mayormente con las serpentinas de Santa Clara, donde 159 especies son comunes, seguido por Lomas de Galindo con 99 especies. La posición geográfica y las similitudes en las características físico-geográficas que presentan estos territorios son, a criterio de los autores, los fundamentos de estos resultados.

### **2.2.2. Afloramiento de serpentina de Santa Clara**

El distrito Serpentinillas de Santa Clara, el de mayor extensión en el distrito *Claraense*, ocupa una extensión aproximada de 730 km, el 10% del área serpentínica de Cuba (Berazaín, 1979; Capote y Berazaín, 1984). Su geología corresponde a rocas de origen cretácico sobre las que se han desarrollado suelos esqueléticos muy jóvenes (cuaternarios), que contrastan por su endemismo con otros afloramientos serpentínicos mucho más antiguos de Cuba.

Noa y Castañeda (1998) publicaron un listado de la flora sobre serpentina de Santa Clara donde relacionan 426 especies de plantas con flores pertenecientes a 286 géneros y 90 familias. En relación al endemismo de la flora se plantea el 30,17% de las especies registradas y se menciona a *Rhodogeron* como género endémico monoespecífico de este afloramiento (*Rhodogeron coronopifolius* Griseb).

Méndez-Orozco *et al.* (2015) realizaron un estudio de la flora y la vegetación en las serpentinas al suroeste de Santa Clara donde registraron 160 especies de plantas con flores pertenecientes a 131 géneros y 59 familias, el 37,6% de las registradas por Noa y Castañeda (1998) para el afloramiento de serpentinas de Santa Clara. En relación al endemismo, un 38,1% de especies son endémicas, lo que constituye el 50% del total de las especies registradas para todo el afloramiento. Por su importancia se destaca la presencia de algunas especies, en su mayoría registradas solo para esta localidad: *Eugenia squarrosa* Urb. & Ekman, *Erythroxylum echinodendron* Ekman, *Byrsonima motembensis* Britton & Small, *Guilleminea brittonii* (Standl.) Mears var. *brittonii*, *Guettarda echinodendron* C. Wright y *Portulaca cubensis* Britton & P. Wilson.

### **2.2.3. Afloramiento de serpentina Minas de Jarahueca-San Felipe-Florencia**

Estudios realizados sobre la flora serpentinícola de los afloramientos al norte de la provincia de Sancti Spíritus (Bécquer *et al.*, 2004), tuvieron como resultados el registro de 320 taxones infragenéricos, pertenecientes a 221 géneros y 77 familias. Como dato de interés, se adicionaron 80 especies de plantas al listado del distrito *Claraense* que no figuran en las investigaciones realizados por Noa y Castañeda (1998), Bécquer *et al.* (2004), Méndez-Orozco *et al.* (2015) y Franco *et al.* (2016). De las especies registradas en las tres localidades estudiadas, 102 son endémicas (31,9%), correspondiendo los mayores valores a Minas de Jarahueca y San Felipe, con alta representatividad de elementos pancubanos.

Estos autores señalan que la alta representación de endémicos pancubanos pueden ser consecuencia de la ubicación de los afloramientos en la posición intermedia de la ruta migratoria de la flora ultrabásica cubana desde oriente a occidente y viceversa planteada por Borhidi (1996) donde se expresa el límite de distribución oriental u occidental, respectivamente, de algunos de los elementos de la flora. Este aspecto demuestra la importancia de estos afloramientos como un eslabón en el eje serpentinico de Cuba.

### **2.3. Taxonomía, características botánicas y distribución del complejo *Guettarda clarensis*, *Guettarda calyprata* y *Guettarda roigiana***

El género *Guettarda* perteneciente a la familia *Rubiaceae*, fue establecido por Linneo en *Species Plantarum*. 2: 991, 1753. Según Alain (1964) este género agrupa más de 85 especies de plantas neotropicales con la mayoría de ellas en las Antillas; Borhidi *et al.* (2017) refiere unas 100 especies con igual área de distribución; de ellas 34 están presentes en Cuba. Por su parte, Greuter y Rankin (2017) en el inventario preliminar de Plantas Vasculares de Cuba reconocen a 36 especies en este género presentes en el archipiélago, con un alto endemismo.

**2.2.1. *Guettarda clarensis* Britton**, Bulletin of the Torrey Botanical Club 42: 510. 1915. Holotipo [espécimen] Cuba central. Provincia Villa Clara. Santa Clara; “Palm barren, city of Santa Clara”, 29-31-III-1910. N. L. Britton, G. Britton & P. Wilson (#115088 NY[foto]). (Fig. 1a).

Arbusto de hasta 2 m con ramas leonado-pelosas. Estípulas aovadas de 0,5 cm, agudas en el ápice, pelosas. Hojas coriáceas, oblongas de 2-5 cm de largo × 1,5-2,5 cm de ancho; ápice obtuso, subacorazonada en la base. Las hojas juveniles son algo pelosas en la haz y pelosas y reticuladas en el envés. Las flores fragantes, axilares, solitarias y sésiles. Cáliz espatáceo, peloso, de 0,5 cm de largo; corola blanca de 1-1,5 cm de largo, el tubo de la corola alboroso, los lóbulos oblongos u obovados. Frutos de hasta 1,5 cm, tomentoso. Distribución: Cuba Central. Distrito *Claraense*; en matorrales espinosos sobre serpentina. Distrito *Claraense*. Provincia de Villa Clara; Corralillo: Sabanas de Motembo; Santa Clara: Sabanas de Santa Clara, ampliamente distribuida; Sierra Alta de Agabama, cuabales entre el Reparto José Martí y el Hotel Los Caneyes, Carretera a Camajuaní, frente a la entrada al aeropuerto y en Loma Los Guiros.

**2.3.2. *Guettarda calyptrata* A. Rich.**, Historia Física Política y Natural de la Isla de Cuba.11: 21. 1850. Holotipo [especimen] Cuba central. Provincia Matanzas. Canasí; La Sagra s.n (P [Ilustr. Plate 46]). (Fig. 1b).

Arbusto o árbol, de hasta 6 m con ramas ferrugíneas-pubérulas. Las estípulas son oblongo-ovales de 1-1,6 cm de largo, obtusas o agudas en el ápice, mucronadas, tomentosas y pelosas. Hojas coriáceas, oblongas a ovales o redondo-aovadas de 3,5-13 cm de largo × 2-7 cm de ancho; ápice redondeado a obtuso, acorazonada en la base, pelosas a glabrescentes en la haz, el envés albo-tomentoso, peloso en los nervios. Inflorescencia tipo cimbras subcapitadas, 3-floras, pedúnculos de 0,3-2,5 cm: Flores sésiles; cáliz tomentoso y peloso, circuncísil de 0,7 cm en el botón; corola blanca, tubo de 2,5-5 cm, retrorso-peloso, lóbulos aovado-oblongos, de 0,8-1,0 cm. Fruto globoso de 0,8-1,8 cm, tomentoso.

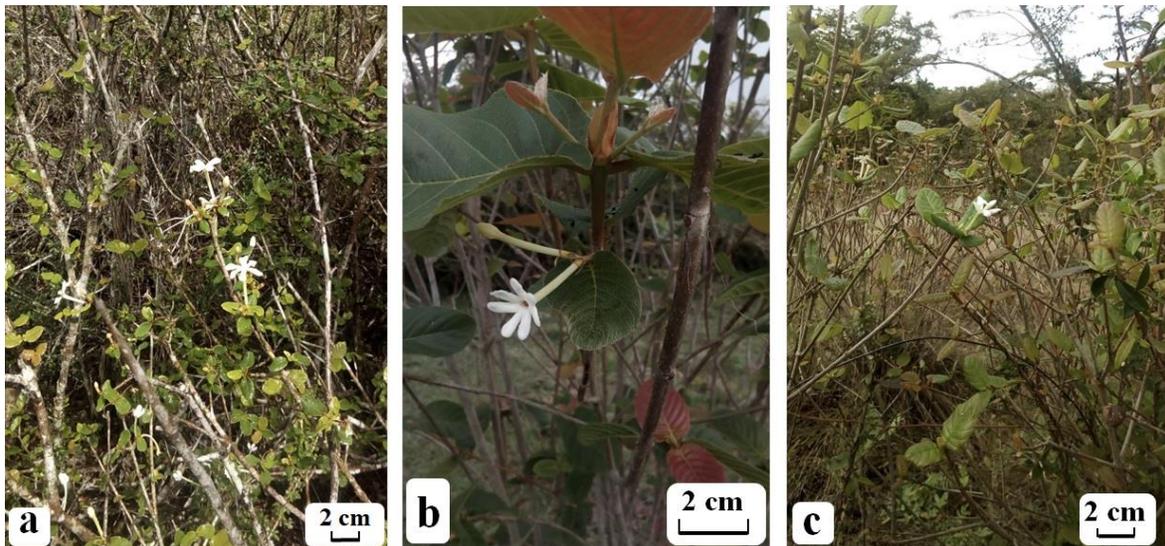
Distribución: Toda Cuba e Isla de la Juventud. En bosques de pino de Cuba occidental ( pinares), matorrales xeromorfos costeros y subcosteros, matorrales espinosos sobre serpentina, bosques semidecíduos mesófilo, bosque siempreverde micrófilo subcostero, sabanas arenosas; persistente en la vegetación secundaria.

Nombres comunes: Guayabito, Cuero de hojas grandes, Contraguao.

**2.3.3. *Guettarda roigiana* Borhidi & O. Muñiz**, Acta Botanica Academiae Scientiarum Hungaricae. 17: 32. 1971. Holotipo [especimen] Cuba central. Provincia Villa Clara. Santa Clara; “in fruticetis siccis serpentinosis “cuabales” inter opp. Santa Clara et pag. Camajuaní”, 2-IX-1969. Borhidi, Muñiz & Vazquez B 275 (SV-HAC #27131[foto]). (Fig. 1c).

Arbusto de 2 m de altura con ramas ferrugíneas o castañas pelosas. Estípulas triangular-lanceoladas de 0,4-0,8 cm de largo, agudo o acuminada en el ápice, el nervio medio visible o prominente en la superficie dorsal, con pelos rígidos. Hojas coriáceas, oblongas u oblongo-elípticas de 2-4 cm de largo × 0,7-1,6 cm de ancho, con el margen ondulado; ápice obtuso, redonda u ovalada en la base. Frutos 1-2 en las axilas, de 2-2,5 cm de diámetro, subglobosos, con cuatro lóculos; la superficie lanosa-tomentulosa; pedúnculos de 1-2 cm.

Distribución: Cuba Central. Distrito *Claraense*; Serpentinias de Santa Clara: Sabanas de Santa Clara, El Playazo; Carretera a Camajuaní km 15, frente a la entrada al aeropuerto; Loma Los Guiros. En matorrales xeromorfos espinosos sobre serpentina.



**Figura 1.** (a) *Guettarda clarensis*, (b) *G. calyptrata* y (c) *G. roigiana*.

#### **2.4. Estudios morfológicos y anatómicos en *Rubiaceae***

En los estudios taxonómicos, entre los órganos de la planta, la hoja puede ser útil, especialmente la epidermis y la cutícula (Judd *et al.*, 2016). En la obra clásica de anatomía para estudios de sistemática vegetal (Metcalf y Chalk, 1950), se plantea la variación en el

engrosamiento de la sinuosidad de las paredes anticlinales en *Rubiaceae*; la presencia de hojas hipostomáticas, con el predominio de estomas del tipo paracíticos, aunque pueden encontrarse también en la familia estomas anomocíticos o anisocíticos. Otro elemento de importancia en estudios taxonómicos que pueden ayudar en la delimitación de géneros en *Rubiaceae*, planteado por Metcalfe y Chalk (1950), lo constituye la formación de cristales de oxalato de calcio; estos son abundantes en la familia en forma de arena, rafidios, y otras formas aciculares.

Theobald *et al.* (1979) registran en *Rubiaceae* tricomas no glandulares, unicelulares o multicelulares en formas y densidad variables, desde papilas hasta pelos largos que forman un indumento denso. Otro aspecto de interés registrado por Metcalfe y Chalk (1950) trata sobre el arreglo del sistema vascular en el pecíolo y en la vena media de la lámina foliar, el cual puede ser utilizado en la diagnosis de algunas especies de plantas; en específico para *Rubiaceae*, en muchas especies el patrón de organización de los tejidos vasculares puede disponerse en forma de U, O o V.

En un estudio de la anatomía y la micromorfología de la hoja en especies de *Posoqueria aublet* (*Rubiaceae*) realizado por Arruda *et al.* (2010), la epidermis adaxial se compone de células ordinarias con paredes anticlinales sinuosas y notable engrosamiento; se registran papilas, pelos cortos unicelulares y pelos pluricelulares sobre la superficie abaxial; también, la presencia de ceras epicuticulares con tipos de ornamentación diversos: filamentos, gránulos o formando una capa continua sobre la superficie.

Sobre las ceras epicuticulares, Wilkinson (1979) resalta como valor potencial para los taxónomos, los tipos de ornamentaciones que pueden presentarse. Barthlott (1981) plantea que tienen significado como un mecanismo de importancia evolutiva para controlar la temperatura de la superficie foliar en las plantas, bajo los efectos de la insolación; Hartmann (1979) refiere que la densidad de la cobertura de ceras es influenciada directamente por factores ambientales.

La búsqueda de información sobre estudios morfológicos y anatómicos en el género *Guettarda*, demuestra que este es poco estudiado. Solo se han realizado investigaciones relacionados con la biología floral de *Guettarda clarensis* (Martínez-Pérez, 2013); esta especie florece y fructifica solo una vez en el año, es una especie heterostila, con alto grado

de sincronía floral entre los individuos. La antesis floral ocurre alrededor del crepúsculo, y todas o la mayoría de las flores abren a la misma vez, ocurriendo la senescencia alrededor de las 24 horas posteriores.

## **2.5. Elementos sobre biología reproductiva. Sus particularidades en *Rubiaceae***

### **2.5.1. Heterostilia**

Algunos polimorfismos florales se manifiestan en los verticilos especializados en la producción de gametos (Faife-Cabrera, 2014). La heterostilia es un polimorfismo floral genéticamente controlado, en el que una población de plantas consta de dos (distila) o tres (tristila) morfos forales (Ganders, 1979; Barrett, 1992; Ferrero, 2009); donde los morfos difieren recíprocamente en las longitudes del estambre y el estilo. En las especies distilas unas plantas tienen flores con hercogamia de aproximación (estigmas por encima de las anteras), mientras que en otras las flores muestran hercogamia reversa (estigma por debajo de las anteras). Las plantas del primer grupo se clasifican como morfo longistilo (L) y las del segundo grupo como morfo brevistilo (B). Los morfos de las especies tristilas son, longistilo (L), brevistilo (B) y medio (M) (Ferrero, 2014).

Se conoce que la heterostilia se manifiesta en al menos 28 familias de angiospermas (Barrett, 2002b); este hecho es común como estrategia reproductiva en la familia *Rubiaceae* (Hernández-Ramírez, 2012; Terra-Araujo *et al.*, 2012). Ganders (1979) plantea que esta es una de las familias con mayor número de géneros donde se manifiesta este polimorfismo, entre los que destacan *Psychotria* (Ganders, 1979; Sampson y Krebs, 2012; Watanabe *et al.*, 2013) y *Guettarda* (Ganders, 1979; Martínez-Pérez, 2013). La determinación del tipo de polimorfismo en cada especie es importante para entender su significado adaptativo o macroevolutivo.

El significado funcional de este polimorfismo fue explicado por Darwin (1877) quien plantea que la heterostilia evolucionaba para favorecer la polinización cruzada y evitar la pérdida de polen. Según Barrett (2002b) esta interpretación es insuficiente por dos razones. Primero, la autoincompatibilidad fisiológica garantiza el entrecruzamiento, pero no explica por qué deben haber evolucionado los complejos componentes morfológicos que caracterizan a este polimorfismo. Segundo, al prevenir el apareamiento intramórfico, la

incompatibilidad heteromórfica restringe las oportunidades de apareamiento, en comparación con la incompatibilidad homomórfica.

Una interpretación más completa de la importancia adaptativa de la heterostilia reconoce diferentes roles funcionales para los componentes morfológicos y fisiológicos. La posición recíproca de los órganos sexuales entre morfos favorece la deposición de polen en partes distintas del polinizador Stone y Thomson (1994). Esta segregación espacial facilita la transferencia de los gametos masculinos entre plantas. Los órganos sexuales recíprocos reciben mayor cantidad de polen legítimo y a la vez se pierde menor cantidad de polen en zonas no útiles en la polinización. Existe, además, una asimetría en el flujo de polen entre los morfos: en el morfo B (brevistilo), debido a la posición basal del estigma, es más precisa la deposición y recogida de polen por los polinizadores que en el morfo L (longistilo) (Lau y Bosque, 2003; Cesaro y Thompson, 2004).

### **2.5.2. Sistema de incompatibilidad**

En las angiospermas el sistema de incompatibilidad se puede clasificar en dos categorías, dependiendo si la reproducción es con especies morfológicamente idénticas o diferentes (Barrett, 1992; Barrett y Cruzan, 1994). En las especies que poseen incompatibilidad homomórfica los emparejamientos se establecen entre individuos que son idénticos en apariencia. La incompatibilidad en este caso está dada por el control genético dentro de la población. En contraste, Barrett y Cruzan (1994) plantean que las especies que presentan sistema de incompatibilidad heteromórfico se distinguen diferencias en la posición de las estructuras reproductivas en las flores. Según estos autores, los dos tipos de incompatibilidad difieren en su distribución y abundancia entre las plantas con flores.

La incompatibilidad homomórfica se estima que está presente en cerca del 50% de las angiospermas en comparación con la heteromórfica; esta aparece representada en 25 familias aproximadamente y en muchas de ellas restringida a pocos géneros (Barrett y Cruzan, 1994; Hiscock y McInnis, 2003; Routley *et al.*, 2004). El sistema de incompatibilidad heteromórfico y la variación morfológica en la posición de estilo y anteras, impide la autofecundación y la reproducción entre plantas de un mismo morfo en especies heterostilas (Barrett, 1992; 2002b; a). Según Ganders (1979) y Weller (2009) existen otros caracteres que difieren entre morfos en las especies heterostilas, la mayoría de

los cuales están relacionados con características del polen y los estigmas. Estos caracteres se conocen como secundarios o ancilares. Por ejemplo, la mayoría de las especies distilas tienen diferencias morfo-específicas en el tamaño del grano de polen, y en la forma y tamaño de las papilas estigmáticas, lo que pudiera funcionar como un mecanismo clave que promueve la captura de polen intermórfico y que participa en los mecanismos de incompatibilidad de cada uno de estos polimorfismos (Lloyd y Webb, 1992).

### **2.5.3. Características de las flores heterostilas**

La mayoría de las flores heterostilas son hermafroditas con una estructura relativamente simple. Por lo general son regulares, gamopétalas y de pequeño tamaño, con poco desarrollo del tubo de la corola. Los estigmas de los morfos florales se diferencian principalmente en la forma y el tamaño del estigma y de la papila estigmática. Las flores presentan pocos estambres, los números más comunes son: 2, 4, 5, 6, 10, o 12. Normalmente, las especies de plantas heterostilas muestran diferencias en el tamaño y número de los granos de polen, y menos frecuentemente en la forma, color y el ornamento de la exina. Todos estos aspectos varían dependiendo de las familia botánica a la que pertenece cada planta (Ganders, 1979).

### **2.5.4. Fenología**

Según Font-Quer (1968) la fenología abarca el estudio de los fenómenos biológicos acomodados a cierto ritmo periódico. Los estudios fenológicos pueden hacerse a nivel individuo, población o comunidad. El primer nivel se refiere a la duración de la floración relacionada con el número y distribución temporal de las flores de un individuo; el segundo nivel se define por el patrón de floración de los individuos de una población; el tercer nivel se refiere al patrón de floración de las poblaciones que conforman la comunidad en estudio (Augspurger, 1983). Estos sucesos fenológicos pueden ser afectados por factores bióticos mediante la competencia, herbívora, polinización, y dispersión de semillas, en adición a diferentes variables climáticas (Sakai *et al.*, 1999).

La fenología reproductiva es una de las definiciones que derivan del concepto planteado por Font-Quer (1968); se refiere a los eventos de floración y fructificación que suceden en las plantas, y su relación con los factores bióticos y abióticos. Estos factores influyen en la

expresión de las variables que caracterizan cada fase de dichos eventos: botón, flor, fruto (Ehrlén, 2015).

Los estudios de fenología reproductiva evalúan varios parámetros, dentro de los que se incluyen: apertura de la primera y de la última flor; duración y pico de floración; y grado de sincronía (McIntosh, 2002; Ehrlén, 2015). Entre estos parámetros, el grado de sincronía juega un papel fundamental en la caracterización de las fenofases (Martínez-Pérez, 2013).

#### **2.5.5. Sincronía**

El grado de sincronía, de floración o fructificación de una planta, es un patrón individual que caracteriza la correspondencia entre el período de floración o fructificación de esta con el de todas las demás plantas de la población (Augspurger, 1983; McIntosh, 2002). La variabilidad individual de cada especie determina el inicio del periodo de floración, así como la sincronía del mismo. Esto en consecuencia se refleja en la abundancia de flores a nivel de población (Augspurger, 1983).

La sincronía en una población puede afectar tanto la cantidad como la calidad genética de su descendencia, porque influye el número de individuos potenciales para la reproducción y la eficacia de la polinización (Freitas y Bolmgren, 2008). La variación ambiental y genotípica, de las plantas en una población asegura que rara vez ocurra una sincronía exacta entre ellas y con su vecindario (Elzinga *et al.*, 2007). Esto impide el cruzamiento entre diferentes especies que se encuentren emparentadas y que ocurra un proceso de hibridación natural (Álvarez, 2001).

Por otro lado, Elzinga *et al.* (2007) y Collin y Shykoff (2010) plantean que la sincronía puede aumentar las posibilidades de supervivencia de las especies, pues las flores serían más visitadas por los polinizadores al ofrecer mayor cantidad de recompensas. Esto puede provocar un aumento en la producción de frutos y semillas, asegurando el éxito reproductivo de la planta, y también aumentar el tamaño de las poblaciones. Según Ashman y Stanton (1991) e Inouye (2008) dada la gran influencia del ambiente en la fenología reproductiva, no resulta sorprendente que en muchos casos la sincronía haya evolucionado en referencia a cuestiones medioambientales.

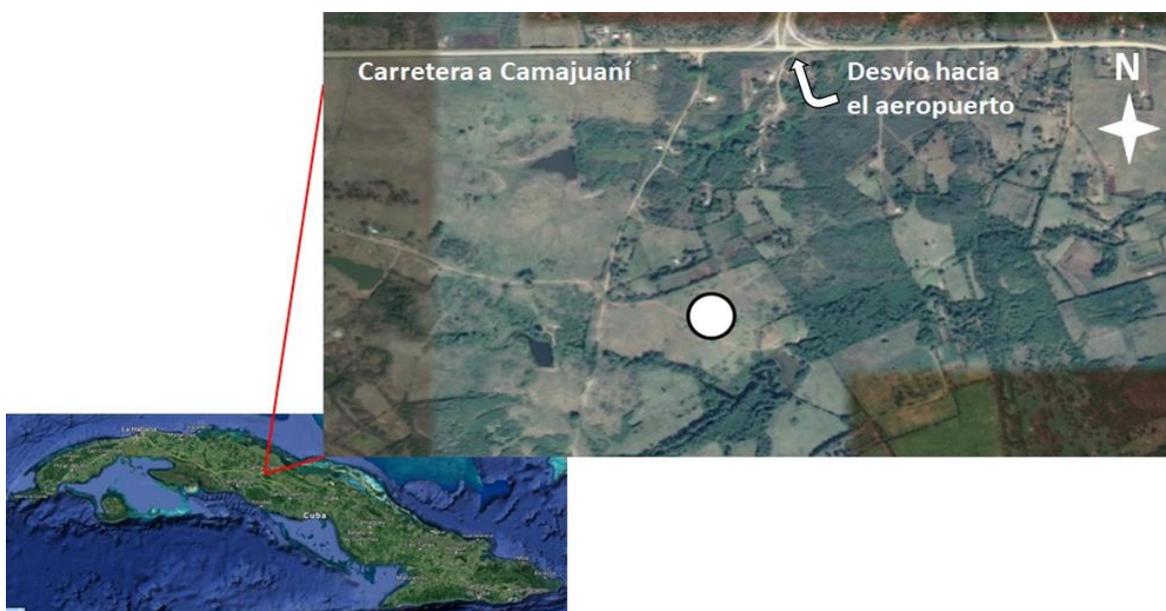
### **2.5.6. Influencia de los factores ambientales en la fenología**

La sincronía floral por lo general está relacionada con señales o disparadores ambientales, tales como precipitación, estrés de hídrico, radiación solar y la abundancia de polinizadores y dispersores. Estas señales han demostrado ser indicadores confiables del momento adecuado de esfuerzo reproductivo en las plantas (Inouye, 2008; Vélchez *et al.*, 2008). La mayor parte de los estudios se han centrado en los posibles impactos del cambio climático en la variación de las señales ambientales, esto a su vez se refleja en la superposición temporal entre florecimiento y actividad de polinizadores y sus interacciones (Forrest, 2015). La disminución de este último aspecto podría afectar negativamente a las poblaciones de plantas, polinizadores o ambos. Por ejemplo, aumentar la severidad de la sequía puede reducir la supervivencia, la floración o la producción de néctar de ciertas plantas, lo que resulta en una menor disponibilidad de recursos para animales dependientes de la flor, menor potencial reproductivo para esas plantas y un menor éxito de polinización con la consecuente disminución de la población de plantas. El aumento de las concentraciones de dióxido de carbono atmosférico también puede tener efectos directos en la producción de néctar, así como en el crecimiento y la reproducción de las plantas (Hegland *et al.*, 2009; Willmer, 2012).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### Área de estudio

El área de estudio se localiza al noreste de la ciudad de Santa Clara, en la provincia de Villa Clara, a los 22°26' N y los 79°49' O, en el km 15 de la carretera de Santa Clara a Camajuaní (Fig. 2). Se presenta un tipo de vegetación secundaria derivada del matorral xeromorfo espinoso sobre serpentina y que en algunos lugares aparecen parches de vegetación que conservan en cierta medida los rasgos de este tipo de vegetación. Desde el punto de vista fitogeográfico, corresponde con el distrito *Claraense* (Borhidi, 1996).



**Figura 2.** Área de estudio.

#### **Caracterización taxonómica, botánica y distribución de las especies del complejo *Guettarda clarensis*, *G. calyptrata* y *G. roigiana***

##### **Taxonomía**

Se tuvo en cuenta las descripciones originales y las fotos de los materiales tipos de *Guettarda clarensis* y *G. roigiana*. En el caso de *G. calyptrata* se tomaron los datos que aparecen en la obra *Rubiáceas de Cuba* Borhidi *et al.* (2017). Se consultaron además las bases de datos en internet Tropicos.org (2018) e INPL.org (2018).

## **Caracterización botánica**

El resumen de la caracterización botánica de *Guettarda clarensis* y de *G. calyprata* se elaboró a partir de la consulta de la obra Flora de Cuba (Alain, 1964); para el caso de *G. roigiana* la descripción de la especie que aparece en la revista *Acta Botanica Academiae Scientiarum Hungaricae* 17 (Borhidi y Muñiz, 1971).

## **Distribución**

Los datos sobre distribución geográfica y formaciones vegetales donde habitan cada una de las especies objeto de estudio se obtuvieron de la literatura referida en los epígrafes anteriores. En específico, *Guettarda clarensis* y *G. roigiana* por constituir endemismos estrictos del distrito *Claraense* se tomó la información de las etiquetas de los materiales de herbario (ULV) y de exploraciones realizadas en el desarrollo de la investigación.

## **Identificación de las especies en la localidad de estudio**

A partir del estudio de los caracteres morfológicos vegetativos y sexuales, que de acuerdo con las descripciones botánicas distinguen a cada una de las especies; así como la familiarización de estos a través de la revisión de materiales de herbario, se procedió a la identificación *in situ* y selección de diez individuos respectivamente, en fase reproductiva. A cada individuo se le colocó una etiqueta de identificación que contiene el nombre de la especie y el número correspondiente para facilitar la toma de datos en los estudios planificados.

## **Colecta de materiales y herborización**

En las colectas de materiales de referencia y para los estudios morfológicos y anatómicos, también para estudios moleculares que se prevén posteriormente, se aplicaron los métodos clásicos y materiales (bolsa para colecta, tijera de podar manual, papel periódico, cartón, sogas, prensas y sobres de papel). Para el secado de las muestras se utilizó una estufa marca P Selecta a una temperatura de 60 °C, hasta alcanzar los niveles de deshidratación requeridos. Los materiales de referencia se encuentran depositados en el Herbario ULV de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas.

- ✓ *Guettarda clarensis* Britton & Wilson, E. Echevarría e I. Castañeda 28-IV-2018 12274 ULV.
- ✓ *Guettarda calyprata* A. Rich., E. Echevarría e I. Castañeda 28-IV-2018 12276 ULV.
- ✓ *Guettarda roigiana* Borhidi & O. Muñiz., E. Echevarría e I. Castañeda 28-IV-2018 12275 ULV.

### **3.1. Estudios de morfología y anatomía**

#### **3.1.1. Estudio morfológico de la hoja**

Para el estudio de los caracteres diagnósticos de *Guettarda roigiana* se incluyó a *Guettarda clarensis* y *Guettarda calyprata* como elementos de comparación, dada la afinidad con estas especies y el probable origen hibridógeno planteados por Borhidi y Muñiz (1971). Los caracteres foliares analizados se muestran en la Tabla I.

Para el análisis de los caracteres evaluados en el pecíolo y la lámina foliar en cada una de las especies se tomaron al azar veinte hojas adultas que no presentaran daños o malformaciones. Las dimensiones de la lámina foliar se tomaron con un pie de rey, y la clasificación de los aspectos morfológicos se realizó siguiendo los criterios de Font-Quer (1968), Dilcher (1974), Hickey (1998) y Ellis *et al.* (2009).

De las plantas seleccionadas anteriormente se tomaron cuatro de cada especie en las que se analizaron cinco estípulas por cada una. Debido al pequeño tamaño que presentan el pecíolo y la estípula, para determinar sus dimensiones se utilizó el software *ImageJ* versión 1.43 (Schindelin *et al.*, 2015). Para los estudios de venación, se analizaron, cinco hojas adultas de cada individuo en cada una de las especies, a través de un estéreo-microscopio Comecta SA. La caracterización del relieve de la vena media en la superficie abaxial de la lámina foliar se realizó teniendo en cuenta la escala propuesta por (Castañeda-Noa, 2014):

**Impresa** el diámetro de la vena incluido alrededor de 3/4 parte o más.

**Ligeramente prominente** incluida entre la mitad y hasta 3/4 del diámetro de la vena.

**Prominente** la vena queda incluida menos de 1/2 de su diámetro.

**Tabla I.** Caracteres morfológicos estudiados en la hoja.

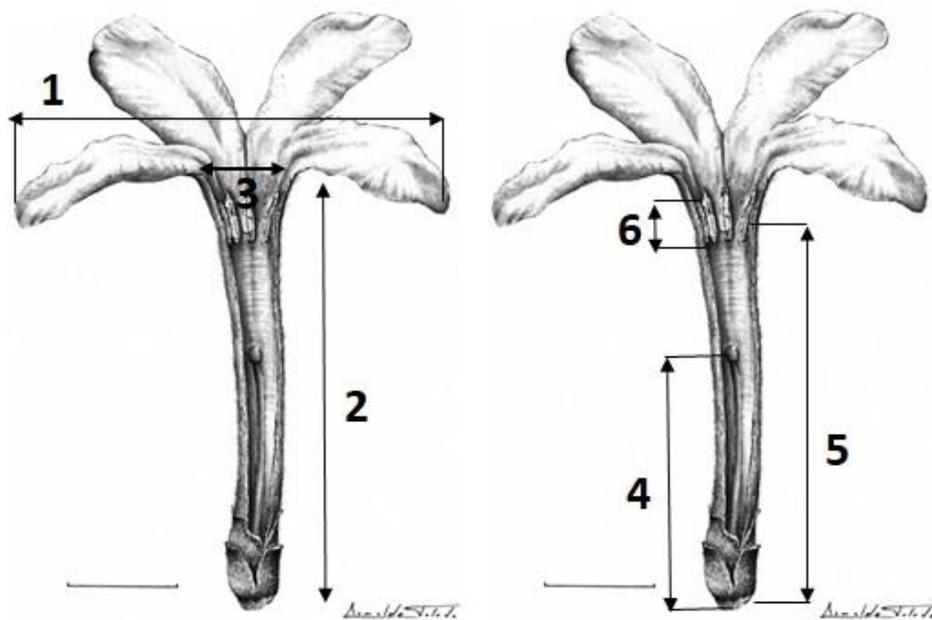
<b>Estructura</b>	<b>Caracteres</b>
<b>Pecíolo</b>	Longitud Grosor Vista en sección transversal Indumento (tipo de tricoma)
<b>Lámina foliar</b>	Dimensiones (largo × ancho) Forma de la lámina, ápice, base y margen. Textura Superficie adaxial (abollada o lisa) Relieve de la vena media y venas secundarias en la haz y en el envés Indumento (tipos de tricoma en la lámina por ambas superficies, distribución) Ceras epicuticulares
<b>Estípula</b>	Dimensiones (largo × ancho) Forma Indumento (tipo de tricoma, distribución)
<b>Venación</b>	Patrón de venación Número de pares de venas secundarias Ángulo de divergencia de las venas secundarias Curso de las venas secundarias y forma en que se anastomosan en relación con el margen de la lámina Patrón de reticulación de las venas terciarias

En el caso específico del indumento, se determinó el tipo de tricoma presente en cada uno de los órganos y estructuras estudiados. Para facilitar la observación y caracterización de los mismos se realizaron cortes transversales a mano, utilizando cuchilla de afeitar y soporte de poliestireno; seguidamente se realizó el montaje de preparaciones semipermanentes para su observación a través del microscopio óptico de campo brillante marca ZEISS Nf con aumento máximo de 400X. Para la clasificación del tipo de tricoma, se siguió el criterio de Payne (1978).

Para determinar la presencia de ceras epicuticulares en la lámina de la hoja, se analizaron hasta cinco hojas adultas de cada material de herbario por cada individuo. Las observaciones se realizaron a través de un estéreo-microscopio marca Comecta SA; para determinar la forma en que se disponen sobre la superficie foliar, sea en una capa continua o proyecciones locales (cristaloides), según la terminología de (Barthlott, 1981) se utilizó para la observación un microscopio óptico de campo brillante marca ZEISS Nf, con aumento de 400X.

### 3.1.2. Estudios de la morfología floral

En el estudio de la morfología floral se utilizaron diez plantas de cada especie, abarcando la representatividad de los diferentes morfos florales. En estas se colectaron aleatoriamente cinco flores por planta y se conservaron en etanol al 70%. A las flores colectadas se les midió longitud, diámetro y apertura de la corola, longitud y altura de las anteras y longitud del pistilo (Fig. 3).



**Figura 3.** Variables morfométricas evaluadas en las flores: 1) diámetro de la corola, 2) longitud de la corola, 3) diámetro de la apertura de la corola, 4) longitud del pistilo, 5) altura de las anteras, 6) longitud de las anteras.

### **3.1.3. Estudios de la morfología del fruto**

Se tomaron al azar cinco frutos maduros que no presentaran daños o malformaciones. Los aspectos analizados corresponden a: dimensiones del largo, desde la base hasta el extremo apical, y el ancho, teniendo en consideración el punto medio, determinado por el mayor diámetro; la forma, color e indumento.

Con excepción del diámetro de la apertura de la corola y la longitud de las anteras, en los estudios de las flores, cuyas mediciones se realizaron con el software *ImageJ* versión 1.43 (Schindelin *et al.*, 2015), por su pequeño tamaño. El resto de los caracteres cuantitativos de las flores y de los frutos se midieron con un pie de rey.

### **3.1.4. Estudios de anatomía foliar**

Se escogieron tres hojas frescas maduras en cada una de las especies. Siguiendo la técnica de Peña y Saralegui (1992) las muestras fueron fijadas en FAA (formol, ácido acético y etanol al 70%) por 48 h, luego preservadas en alcohol al 70%. Posteriormente se aplicaron cortes transversales y paradérmicos en la parte media de la lámina foliar e incluyendo la vena media; estos fueron hechos a mano con una cuchilla de afeitar utilizando un soporte de poliestireno. Luego se tiñeron con azul de toluidina y se diferenciaron con alcohol al 70%, posteriormente se lavaron con agua destilada. Se elaboraron preparaciones semipermanentes para su observación y toma datos a través del microscopio óptico de campo brillante marca ZEISS Nf con aumento máximo de 400X. De las estructuras estudiadas se tomaron fotos con una cámara acoplada marca NIKON COOLPIX 1.23.

Con el objetivo de estudiar la epidermis abaxial de la lámina foliar, por la presencia de un indumento denso que impide observar las células ordinarias y estomáticas a través de un corte paradérmico, se obtuvieron segmentos de la lámina en cada una de las especies: estos se sometieron al calentamiento en baño de María a una temperatura de 80 °C durante cinco minutos, en una solución de HNO<sub>3</sub> y agua destilada en proporción 1:1, para lograr el desprendimiento de este tejido, según Peña y Saralegui (1992).

Los caracteres analizados en la anatomía foliar se muestran en la Tabla II.

**Tabla II.** Caracteres anatómicos estudiados en la hoja.

<b>Estructura</b>	<b>Caracteres</b>
<b>Epidermis adaxial</b>	Forma de las paredes anticlinales (rectas, convexas o sinuosas) Número de estratos celulares Hipodermis Grosor de la cutícula <ul style="list-style-type: none"><li>• Gruesa: si se encuentra entre la mitad y 1/3 o más del ancho de las células epidérmicas</li><li>• Mediana si alcanza 1/3 del ancho de las células epidérmicas</li><li>• Delgada si es menor que 1/3 del ancho de las células epidérmicas</li></ul>
<b>Estomas</b>	Tipo Presencia en ambas superficies de la hoja
<b>Mesofilo</b>	Número de estratos en el parénquima en empalizada Presencia de cristales. Tipos
<b>Vena media</b>	Tipo de haz vascular, forma de revestimiento y continuidad de las fibras esclerenquimatosas en la vena media y en venas laterales
<b>Pecíolo</b>	Patrón de vascularización (Howard, 1979)

### 3.1.5. Integración de los estudios de caracteres vegetativos y sexuales

Las comparaciones se realizaron entre cada uno de los caracteres evaluados para las hojas, las flores y los frutos de las tres especies estudiadas. El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el software STATISTICA versión 7 para *Windows*. Se comprobaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza para cada variable analizada. Para determinar si existen diferencias significativas entre cada una de las variables se se aplicaron las pruebas de Kruskal-Wallis y comparación de medias *a posteriori* para una significación de 0,05.

### **3.2. Estudio de la fenología reproductiva**

A partir del mes de febrero del 2017, y hasta agosto del 2017, se realizaron las observaciones fenológicas en diez individuos de cada especie. Estos individuos fueron censados una vez cada 15 días durante el periodo que las plantas no tenían ni flores ni frutos; al iniciar la floración las observaciones se realizaron una vez por semana hasta que concluyó la fructificación. Se determinó la fecha de apertura de la primera y la última flor, la duración de la floración y la fecha del pico de floración.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Caracterización de la morfología y anatomía foliar en *Guettarda clarensis*, *Guettarda calyptrata* y *Guettarda roigiana*

En este acápite se presentan los resultados de los estudios realizados sobre la morfología y anatomía foliar en cada una de las entidades de estudio.

#### 4.1.1. Morfología foliar

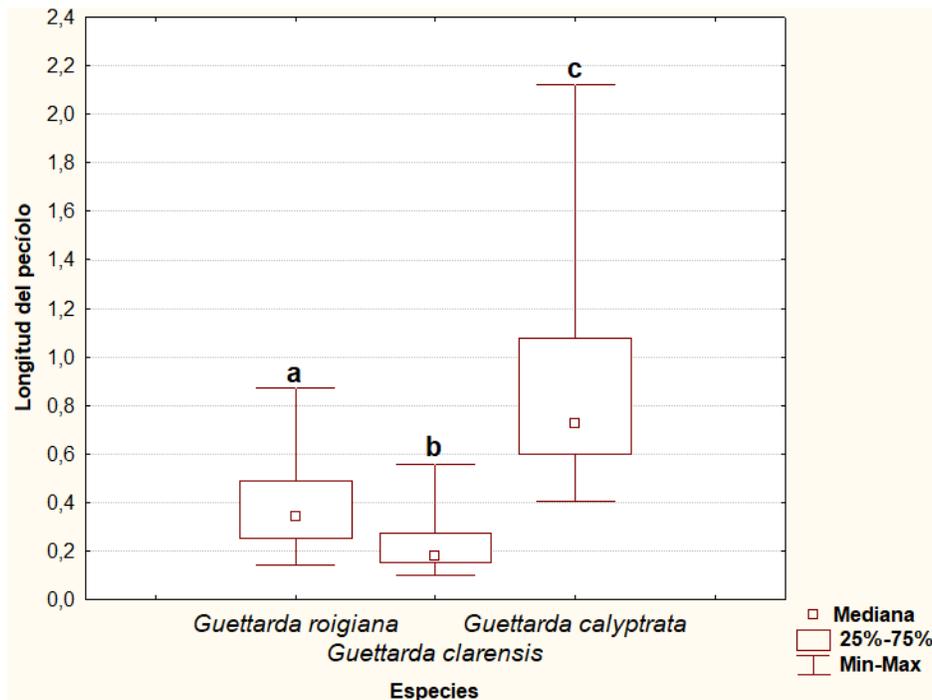
Como regularidad en las tres especies objeto de estudio, la estípula se presenta asociada a la yema foliar y alcanza su máximo desarrollo con la aparición de las hojas, que se torna caediza. Son ovadas a ovado-oblongas, con la base truncada y el ápice agudo. El pecíolo en sección transversal, es plano en la parte superior en *Guettarda clarensis*, canaliculado en *G. calyptrata* y ligeramente canaliculado en *G. roigiana*. En las tres especies la lámina foliar es ovado a ovado oblonga o elíptica; el ápice obtuso, agudo u obtuso en *G. clarensis*; la base cordiforme; el margen entero, algo eroso. En relación a la textura, poseen hojas coriáceas, observándose mayor expresión en *G. clarensis*, mientras que la superficie adaxial es comúnmente abollada entre las venas secundarias en cada una de las especies.

Las dimensiones de la estípula, el pecíolo y la lámina foliar de cada una de las especies, incluyendo el tratamiento estadístico aplicado para cada uno de estos elementos se expresan en las siguientes tablas y figuras.

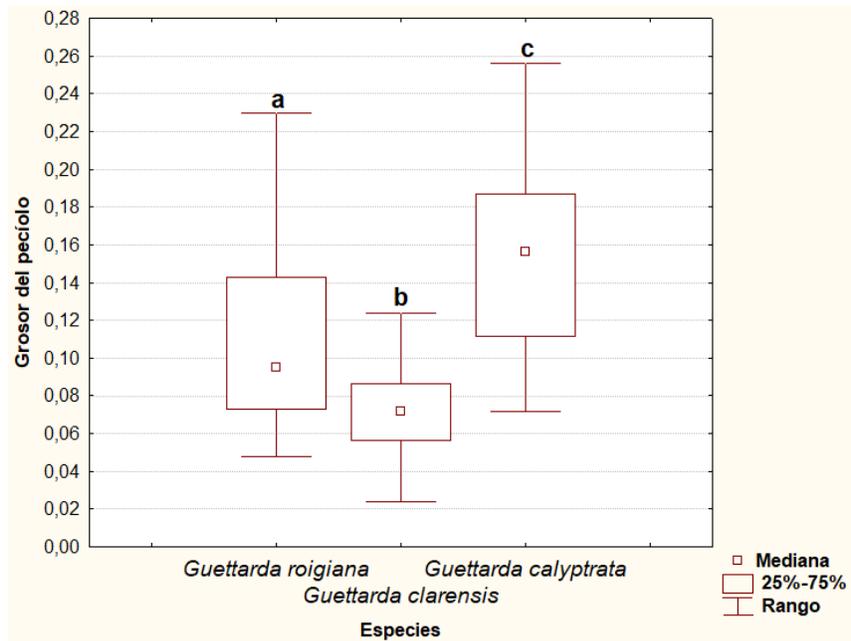
**Tabla III.** Dimensiones de la estípula, el pecíolo y la lámina foliar dada en función de la media  $\pm$  desviación estándar en *Guettarda clarensis*, *G. calyptrata* y *G. roigiana*.

Caracteres	<i>G. clarensis</i>	<i>G. calyptrata</i>	<i>G. roigiana</i>
<b>Estípula</b>			
Largo	0,4 $\pm$ 0,09	1,0 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,1
Ancho	0,2 $\pm$ 0,07	0,7 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,1
<b>Pecíolo</b>			
Longitud	0,2 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,4	0,4 $\pm$ 0,2
Grosor	0,07 $\pm$ 0,02	0,2 $\pm$ 0,05	0,1 $\pm$ 0,04
<b>Lámina foliar</b>			
Largo	2,4 $\pm$ 0,8	7,3 $\pm$ 3,1	4,2 $\pm$ 2,0
Ancho	1,5 $\pm$ 0,5	4,5 $\pm$ 1,7	2,8 $\pm$ 1,0

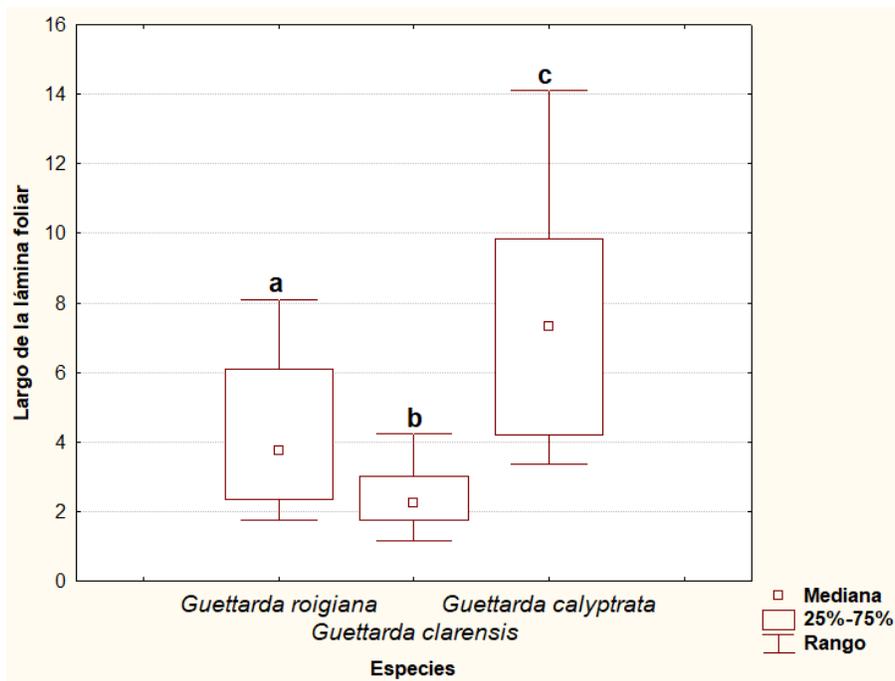
El Test de Shapiro-Wilk para la comprobación de la normalidad muestra diferencias significativas para todos los caracteres que se presentan en la Tabla III. De igual forma la prueba de Kruskal-Wallis muestra diferencias estadísticas para los caracteres antes referidos. La comparación múltiple de medias *a posteriori* indica que existen diferencias entre las tres especies estudiadas para las variables analizadas en el pecíolo (Fig. 4 y 5) y la lámina foliar (Fig. 6 y 7). Las dimensiones de la estipula muestran diferencias en *Guettarda clarensis* con respecto a *G. calyprata* y *G. roigiana* (Fig. 8 y 9).



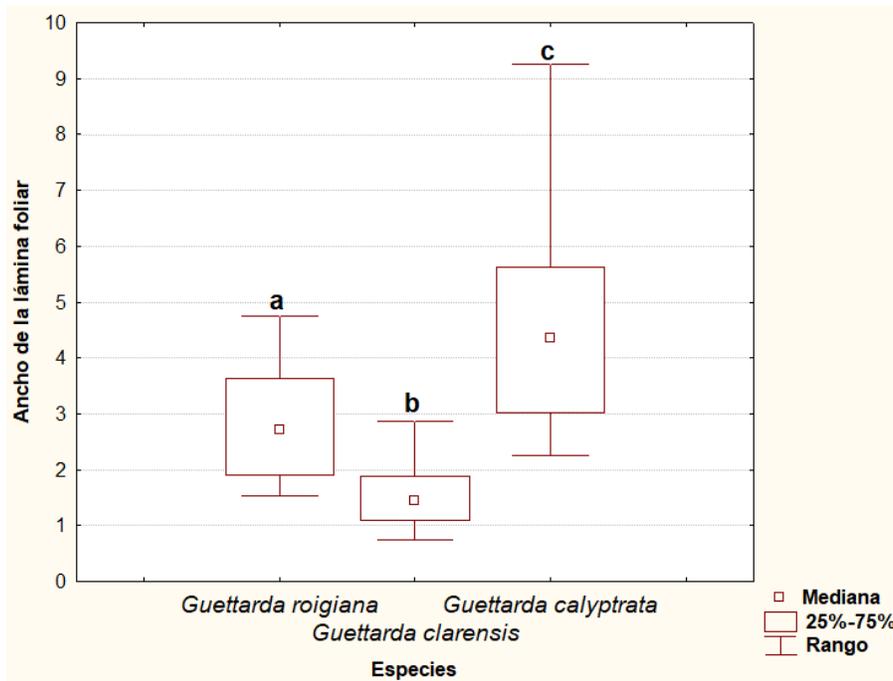
**Figura 4.** Comparación entre *Guettarda clarensis*, *G. calyprata* y *G. roigiana* para la variable longitud del pecíolo para un grado de significación de 0,05. Las letras diferentes representan las diferencias entre las especies.



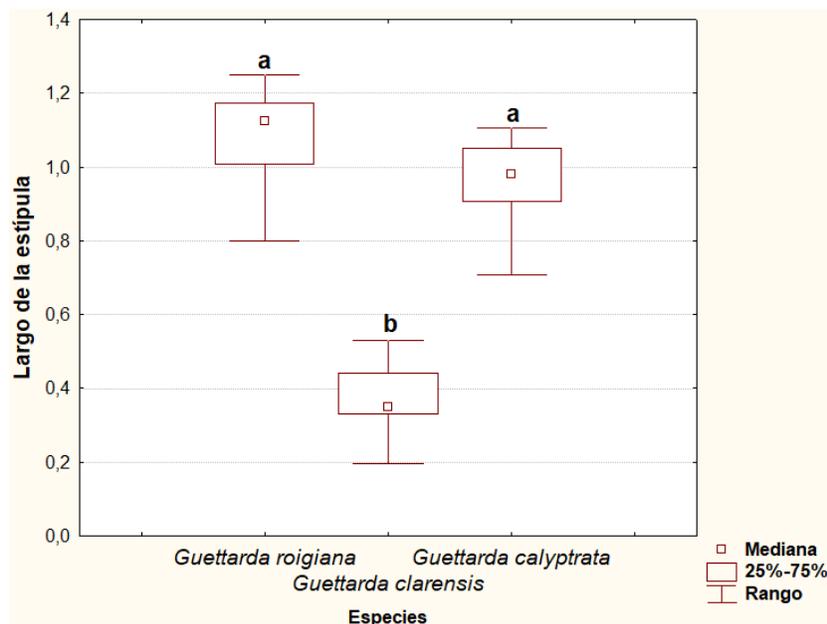
**Figura 5.** Comparación entre *Guettarda clarensis*, *G. calyprata* y *G. roigiana* para la variable grosor del pecíolo a para un grado de significación de 0,05. Las letras diferentes representan las diferencias entre las especies.



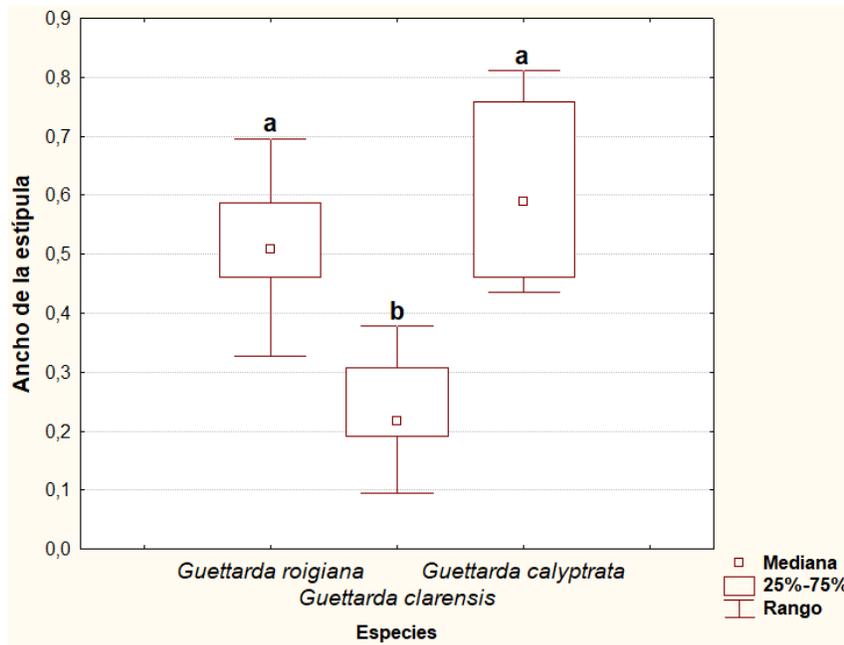
**Figura 6.** Comparación entre *Guettarda clarensis*, *G. calyprata* y *G. roigiana* para variable largo de la lámina foliar para un grado de significación de 0,05. Las letras diferentes representan las diferencias entre las especies.



**Figura 7.** Comparación entre *Guettarda clarensis*, *G. calytrata* y *G. roigiana* para las variables ancho de la lámina foliar para un grado de significación de 0,05. Las letras diferentes representan las diferencias entre las especies.



**Figura 8.** Comparación entre *Guettarda clarensis*, *G. calytrata* y *G. roigiana* para la variable largo de la estípula para un grado de significación de 0,05. Las letras diferentes representan las diferencias entre las especies.



**Figura 9.** Comparación entre *Guettarda clarensis*, *G. calyprata* y *G. roigiana* para la variable ancho de la estípula para un grado de significación de 0,05. Las letras diferentes representan las diferencias entre las especies.

### Caracterización de la venación

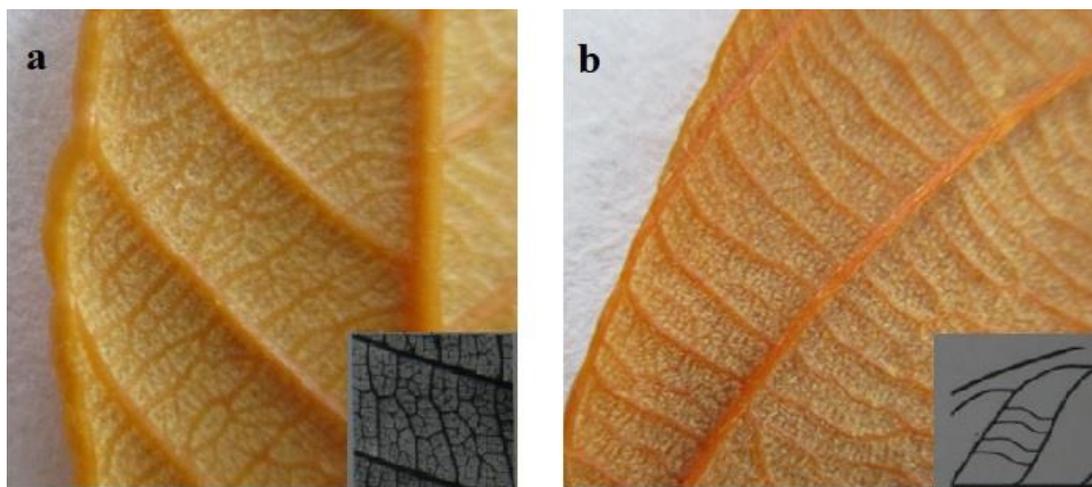
El patrón de venación en todos los individuos es broquidódromo. Las venas secundarias se presentan en número de cinco a siete en *G. clarensis* y en *G. roigiana*, mientras que en *G. calyprata* entre seis y ocho; según el curso y la forma de anastomosarse en relación al margen de la lámina, en las tres especies las venas secundarias se presentan arqueadas; en *G. calyprata* se anastomosan cerca del margen (Fig. 10b); sin embargo, en *G. clarensis* y *G. roigiana* se unen formando una vena intramarginal (Fig. 10a).

Las venas secundarias, tienen ángulo de divergencia uniformemente agudo en *G. clarensis* y *G. roigiana*; en *G. calyprata* se presenta de forma variable, obtusos en los pares de venas basales y moderadamente agudo en los pares de venas superiores. En cada una de las especies las venas primarias y secundarias se encuentran impresas por la haz, mientras que por el envés se presentan prominentes. No se desarrollan venas intersecundarias.



**Figura 10.** Curso y forma en que se anastomosan las venas secundarias en relación al margen de la lámina foliar en: (a) *Guettarda clarensis* y *G. roigiana* y (b) *Guettarda calyprata*.

El patrón de ramificación de las venas terciarias corresponde al tipo ramificado en las tres especies. Con cierta diferenciación entre ellas: en *Guettarda clarensis* es del tipo reticulado aleatorio (Fig. 11b), donde los ángulos de anastomosis varían; mientras que en *G. calyprata* y *G. roigiana* es transversal, se orientan a través del área de intercostal definiendo un curso sinuoso (Fig. 11a).



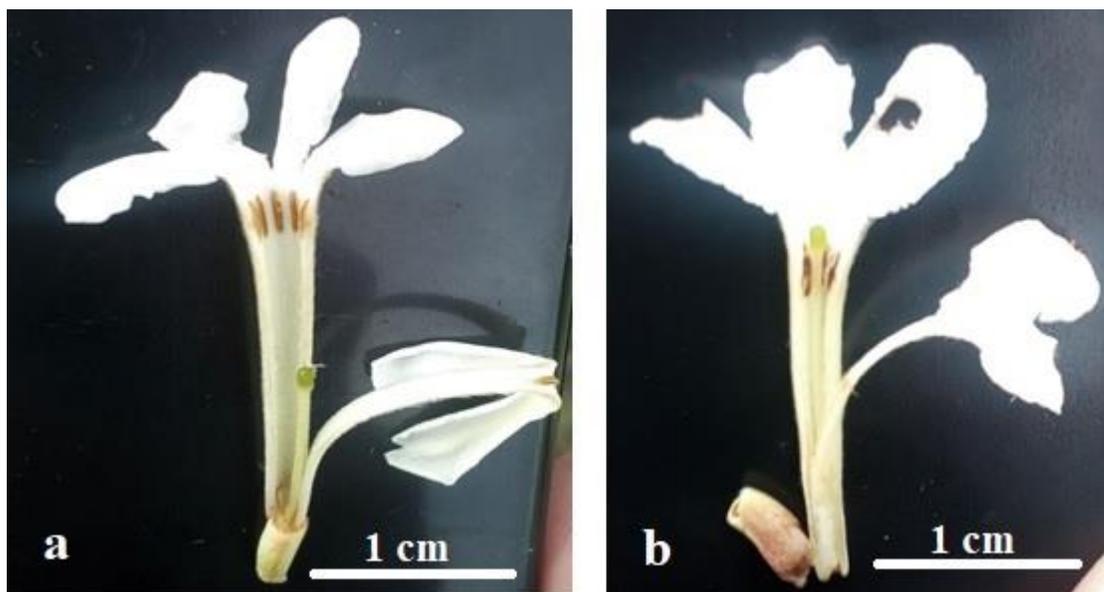
**Figura 11.** Patrón de reticulación de las venas terciarias en (a) *Guettarda clarensis* y (b) *G. calyprata* y *G. roigiana*.

#### 4.1.2. Caracterización de la morfología floral

##### Descripción de la flor en *Guettarda roigiana*

Los caracteres de la flor en *Guettarda roigiana*, que se describen a continuación, constituyen una novedad para la especie en este estudio, lo que permite un completamiento del conocimiento de sus estructuras reproductivas.

Las flores son fragantes, axilares, solitarias y sésiles. Cáliz espatáceo, ferrugíneo y peloso de 0,5-0,7 cm de largo. Corola blanca de 1,1-1,8 cm de diámetro; el tubo de la corola de 0,7-2,9 cm de largo, albo-peloso; lóbulos 4-6, oblongos u obovados de 0,5-1,2 cm de largo. Estambres de 5-6 de 1,0-2,0 cm de largo. Gineceo heterostilo que determina dos morfos florales, uno brevistilo y otro longistilo (Fig. 12ab).



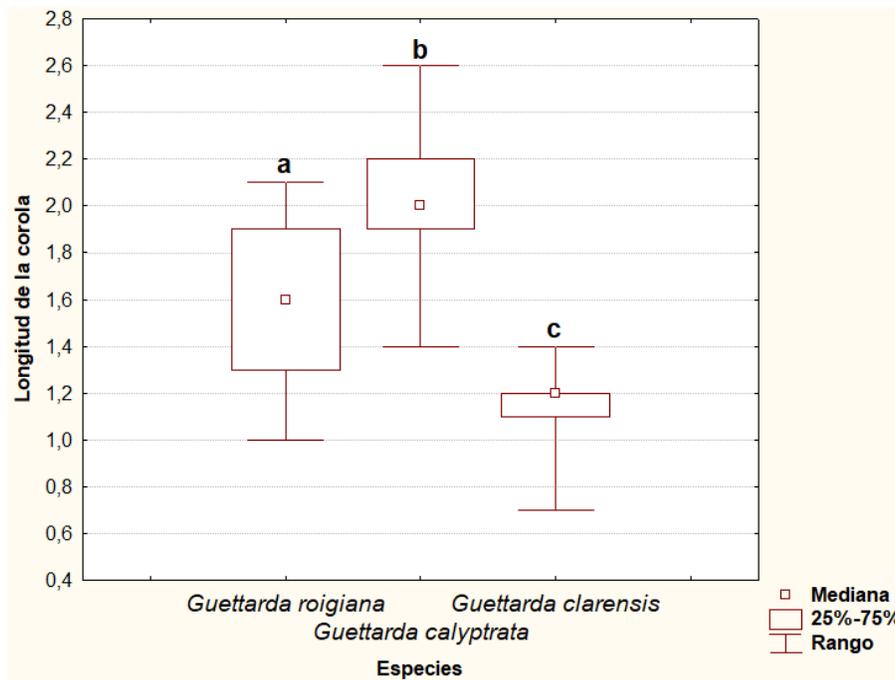
**Figura 12.** Morfos florales de *Guettarda roigiana*: (a) morfo brevistilo y (b) morfo longistilo.

El Test de Shapiro-Wilk para la comprobación de la normalidad muestra diferencias significativas para todos los caracteres que se presentan en la Tabla IV. De igual forma la prueba de Kruskal-Wallis muestra diferencias estadísticamente significativas para los caracteres antes referidos. La comparación múltiple de medias *a posteriori* indica que existen diferencias entre las tres especies estudiadas para las variables longitud de la corola y altura de las anteras (Fig. 13 y 14) Este análisis detectó diferencias significativas para las

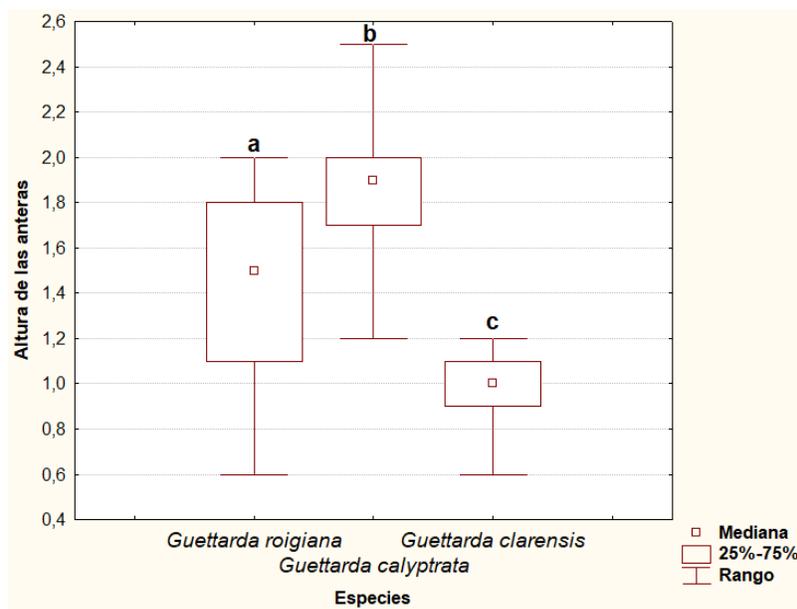
variables diámetro de la corola y de la apertura de la corola y para la longitud de las anteras entre *G. calytrata* con respecto a *G. clarensis* y *G. roigiana* (Fig. 15, 16 y 17). La longitud del pistilo muestra diferencias entre *G. clarensis* con respecto a *G. calytrata* y *G. roigiana* (Fig. 18).

**Tabla IV.** Resultados de los estudios de la morfología de la flor *Guettarda clarensis*, *G. calytrata* y *G. roigiana* dados en función de la media  $\pm$  desviación estándar.

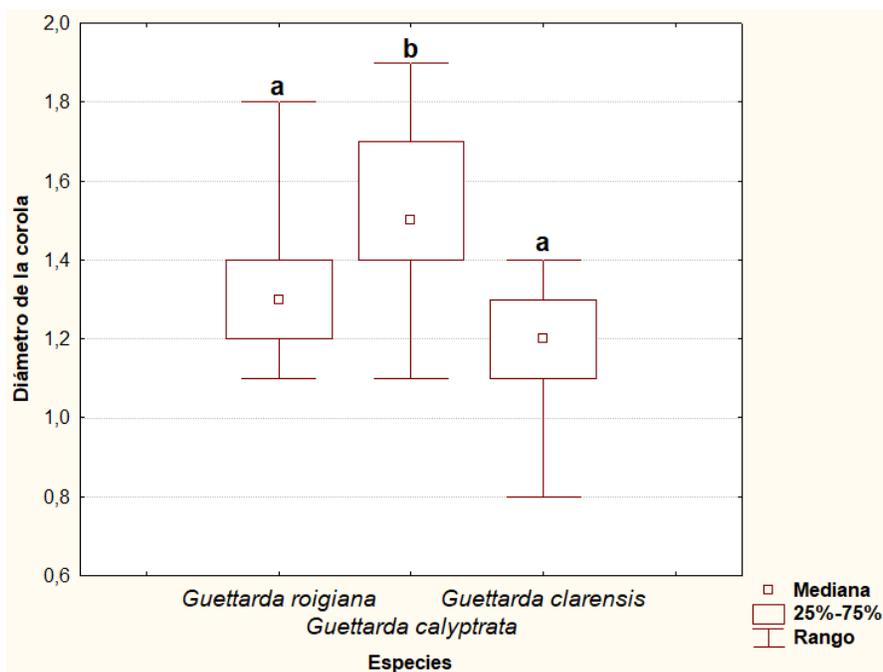
Variabes	<i>G. clarensis</i>	<i>G. calytrata</i>	<i>G. roigiana</i>
Diámetro de la corola	1,2 $\pm$ 0,2	1,5 $\pm$ 0,2	1,3 $\pm$ 0,2
Longitud de la corola	1,1 $\pm$ 0,2	2,0 $\pm$ 0,2	1,6 $\pm$ 0,3
Diámetro de la apertura de la corola	0,2 $\pm$ 0,03	0,3 $\pm$ 0,01	0,2 $\pm$ 0,02
Longitud del pistilo	1,0 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 0,3	1,4 $\pm$ 0,3
Altura de las anteras	1,0 $\pm$ 0,1	1,8 $\pm$ 0,2	1,4 $\pm$ 0,4
Longitud de las anteras	0,26 $\pm$ 0,04	0,28 $\pm$ 0,05	0,27 $\pm$ 0,03



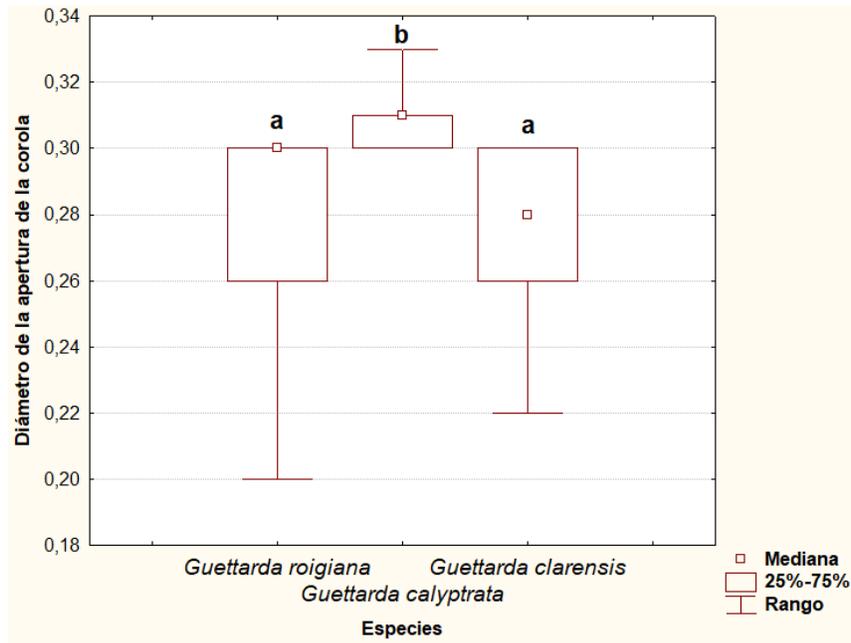
**Figura 13.** Comparación entre *Guettarda clarensis*, *G. calytrata* y *G. roigiana* para la longitud de la corola, para un grado de significación de 0,05. Las letras diferentes representan las diferencias entre las especies.



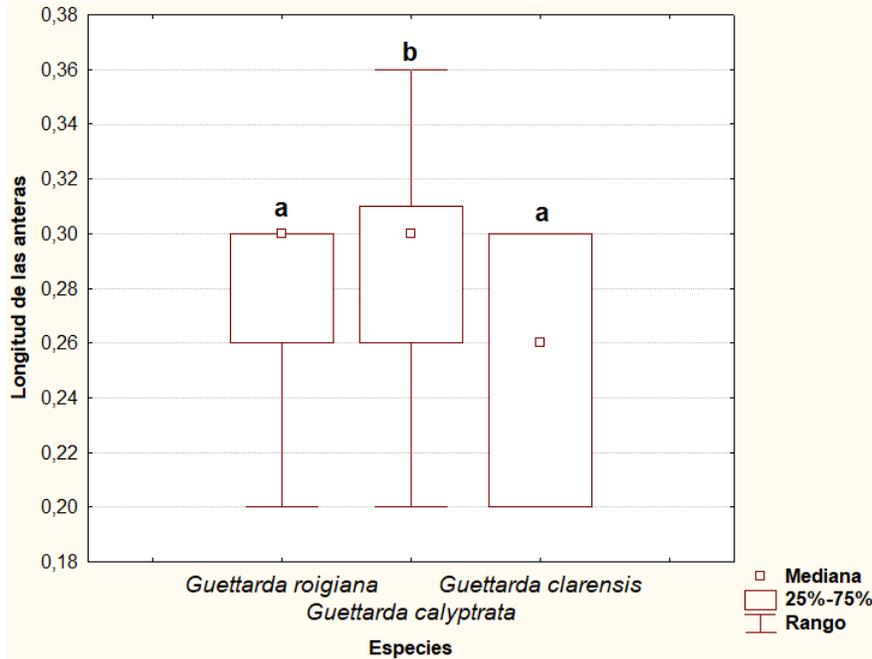
**Figura 14.** Comparación entre *Guettarda clarensis*, *G. calyprata* y *G. roigiana* para la altura de las anteras, para un grado de significación de 0,05. Las letras diferentes representan las diferencias entre las especies.



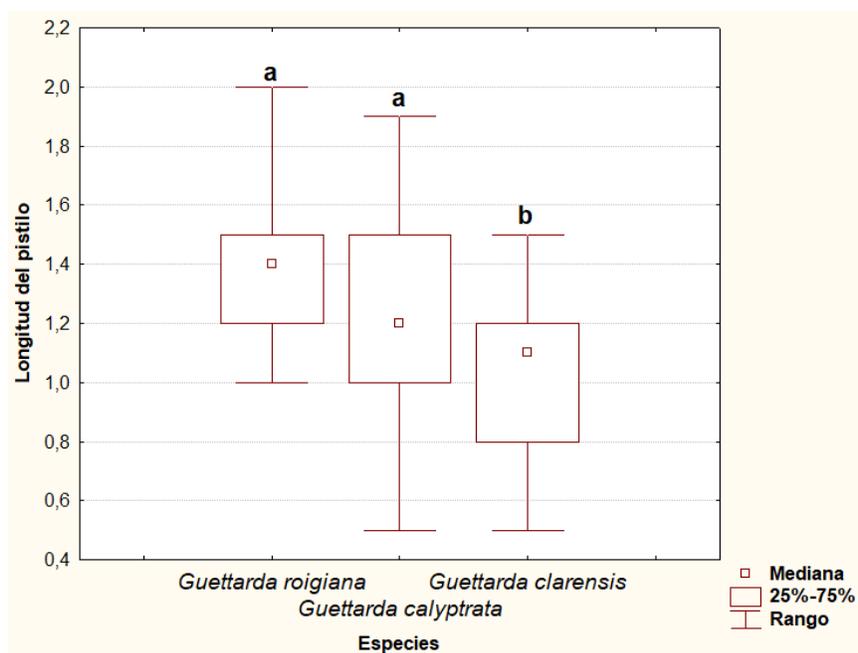
**Figura 15.** Comparación entre *Guettarda clarensis*, *G. calyprata* y *G. roigiana* para el diámetro de la corola, para un grado de significación de 0,05. Las letras diferentes representan las diferencias entre las especies.



**Figura 16.** Comparación entre *Guettarda clarensis*, *G. calyprata* y *G. roigiana* para el diámetro de la apertura de la corola, para un grado de significación de 0,05. Las letras diferentes representan las diferencias entre las especies.



**Figura 17.** Comparación entre *Guettarda clarensis*, *G. calyprata* y *G. roigiana* para la longitud de las anteras, para un grado de significación de 0,05. Las letras diferentes representan las diferencias entre las especies.



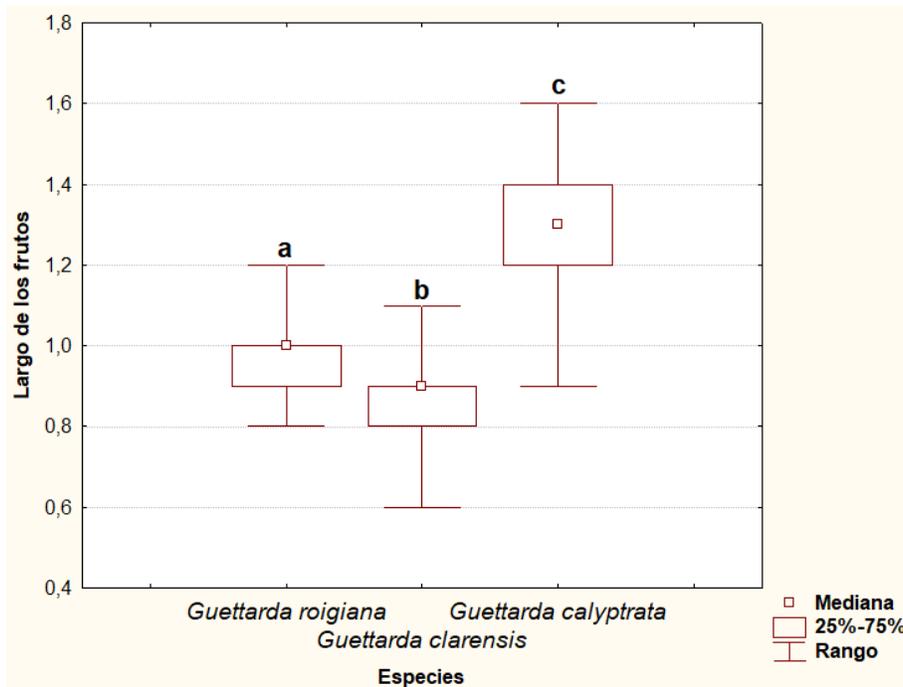
**Figura 18.** Comparación entre *Guettarda clarensis*, *G. calyprata* y *G. roigiana* para la longitud del pistilo, para un grado de significación de 0,05. Las letras diferentes representan las diferencias entre las especies.

#### 4.1.3. Caracterización de la morfología del fruto

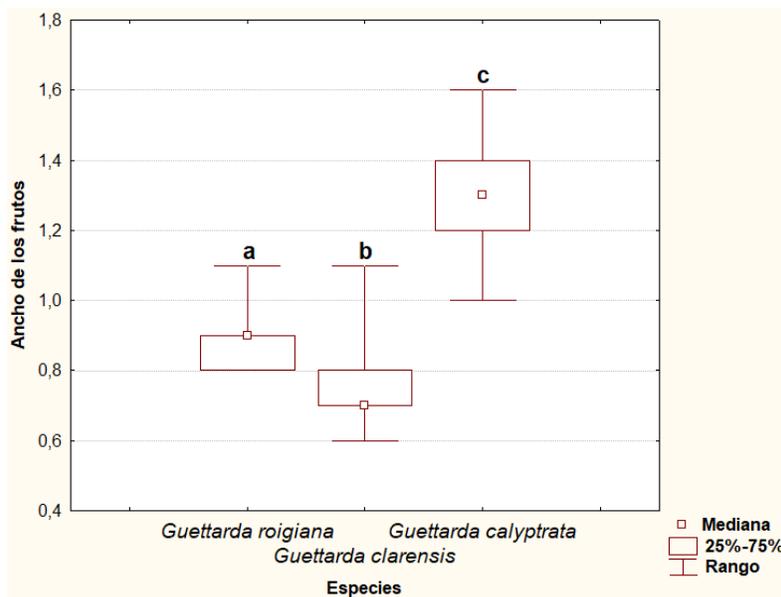
**Tabla V.** Resultados de los estudios de la morfología del fruto en *Guettarda clarensis*, *G. calyprata* y *G. roigiana*, dados en función de la media  $\pm$  desviación estándar.

Variabes	<i>G. clarensis</i>	<i>G. calyprata</i>	<i>G. roigiana</i>
Largo del fruto	0,856 $\pm$ 0,1	1,286 $\pm$ 0,1	0,96 $\pm$ 0,1
Ancho del fruto	0,762 $\pm$ 0,1	1,294 $\pm$ 0,1	0,898 $\pm$ 0,07

El Test de Shapiro-Wilk para la comprobación de la normalidad muestra diferencias significativas para las variables que se presentan en la Tabla V. De igual forma la prueba de Kruskal-Wallis muestra diferencias estadísticamente significativas para las variables antes referidas. La comparación múltiple de medias *a posteriori* indica que existen diferencias entre las tres especies estudiadas para las variables largo y ancho del fruto (Fig. 19 y 20).



**Figura 19.** Comparación entre *Guettarda clarensis*, *G. calyprata* y *G. roigiana* para el largo de los frutos, para un grado de significación de 0,05. Las letras diferentes representan las diferencias entre las especies.



**Figura 20.** Comparación entre *Guettarda clarensis*, *G. calyprata* y *G. roigiana* para el ancho de los frutos, para un grado de significación de 0,05. Las letras diferentes representan las diferencias entre las especies.

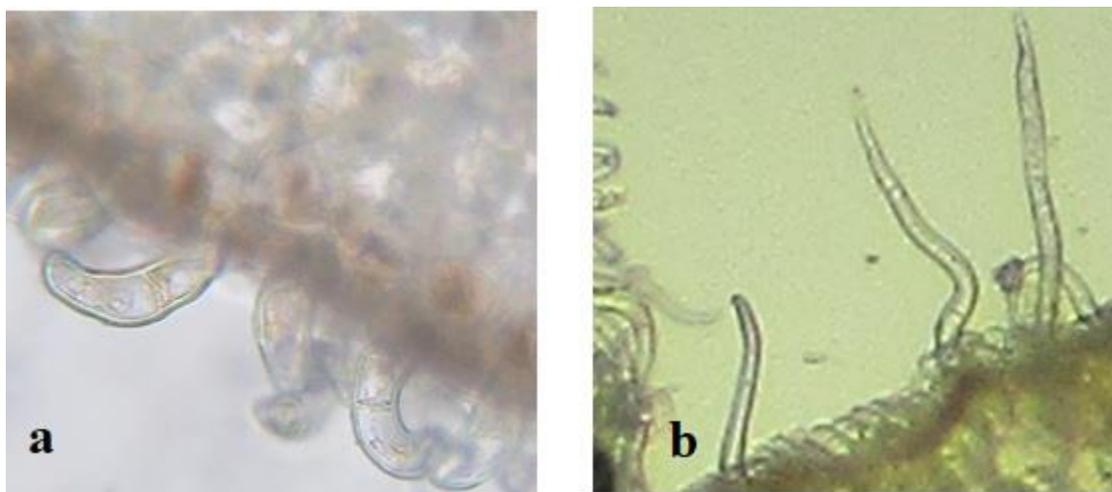
#### 4.1.4. Resultados de los estudios de micromorfología

En este acápite se presentan los resultados de los estudios realizados sobre el indumento y las ceras epicuticulares.

##### Indumento

El estudio del indumento en las diferentes especies reveló que presentan tricomas de revestimiento unicelulares o pluricelulares, de paredes celulares gruesas, en las partes más jóvenes de las ramas, estípulas, pecíolo, lámina foliar, flores y frutos. A continuación, se describe e ilustra los tipos de tricomas observados en *G. clarensis*, *G. calyptrata* y *G. roigiana*:

- ❖ Pelos pluricelulares simples, uncinados (Fig. 21a). Este tipo de pelo aparece sobre la superficie del pecíolo y en la superficie abaxial de la lámina foliar de *G. clarensis*, *G. calyptrata* y *G. roigiana*, dando el aspecto tomentoso. En los espacios donde aparecen las criptas estomáticas, estos cubren la superficie.
- ❖ Pelos pluricelulares simples, aciculados (Fig. 21b). Este tipo de pelo aparece en la superficie externa de las estípulas, en el pecíolo, en la superficie adaxial de la lámina foliar, en el tubo de la corola y en el fruto; también sobre la vena media y las venas secundarias, en ambas superficies de la lámina foliar, donde alcanza mayor tamaño.

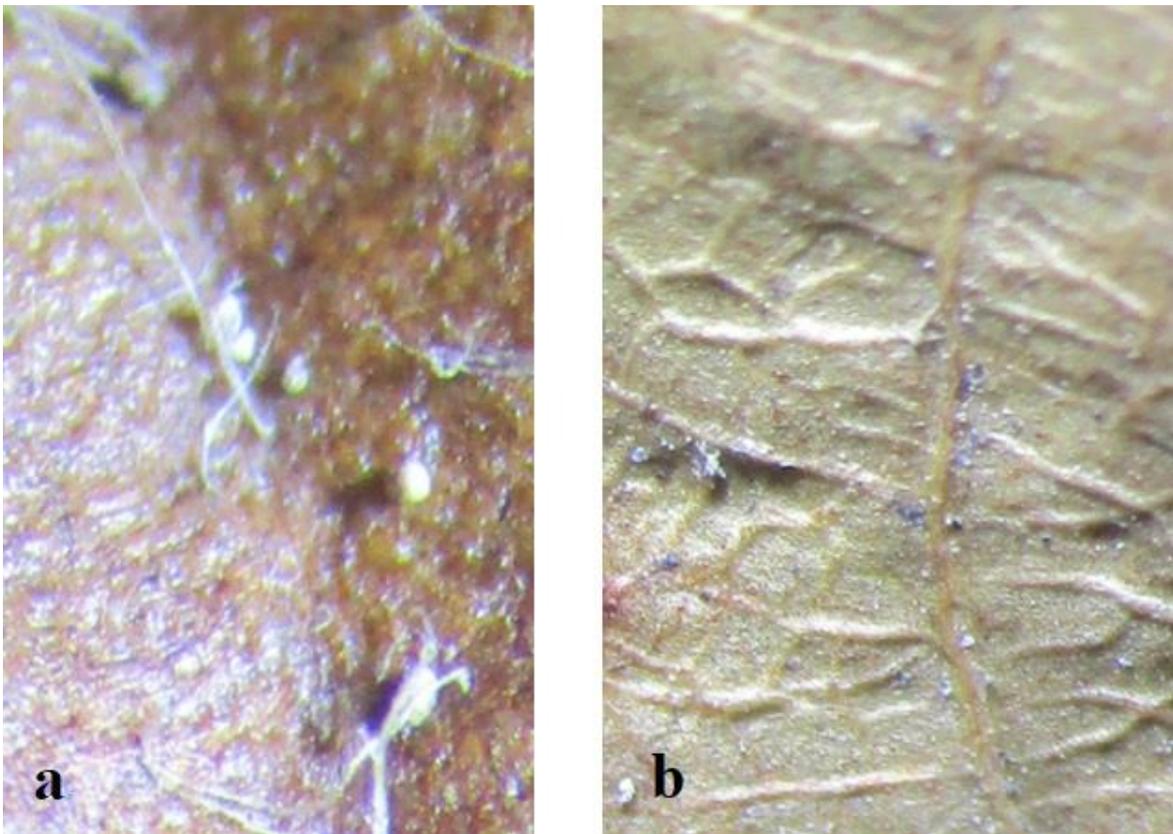


**Figura 21.** Tipos de pelos observados en *Guettarda clarensis*, *G. calyptrata* y *G. roigiana*: (a) pelos pluricelulares simples uncinados y (b) aciculados. Aumento 400X.

En *G. clarensis* el tomento de pelos simples uncinados cubre la totalidad de la superficie abaxial de la lámina foliar; mientras que en *G. calyptrata* y *G. roigiana* se circunscriben a las áreas intercostales de la lámina foliar; sobre las venas de cada una de las especies aparecen pelos simples pluricelulares, rígidos. De forma particular en *G. calyptrata* se presenta este tipo de pelo, pero de mayor longitud, aplicados sobre la vena media y venas secundarias, cubriéndolas en su totalidad.

### Ceras epicuticulares

La presencia de ceras epicuticulares fue observada en las tres especies. Esta puede presentarse de forma laminar, es decir, formando una capa continua por toda la superficie adaxial de la hoja, como ocurre en *G. clarensis* (Fig. 22b); mientras que en *G. calyptrata* y en *G. roigiana* se presentan en forma de gránulos (Fig. 22a).



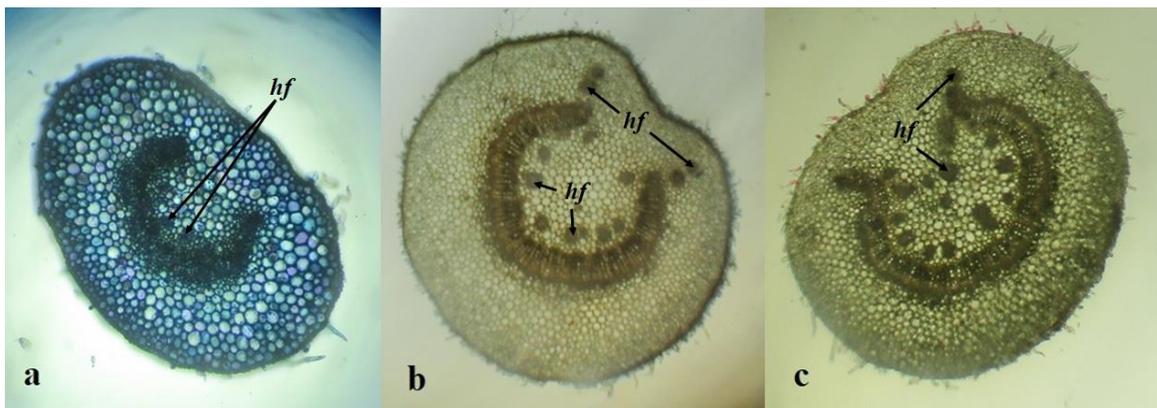
**Figura 22.** Ceras epicuticulares: (a) *Guettarda calyptrata* y *G. roigiana* (b) *G. clarensis*.

#### 4.1.5. Anatomía del pecíolo y de la lámina foliar

##### Características atómicas del pecíolo

El patrón de vascularización identificado en cada una de las especies es en forma de un arco invertido rodeado de parénquima; hacia el interior, contigua al xilema, se presentan haces de fibras esclerenquimáticas en cantidades variables, libres o agrupadas. En *G. clarensis* se presenta un arco simple (Fig. 23a); sin embargo, en *G. calyptrata* en el extremo de ambos lados del haz vascular se presenta un haz de fibra esclerenquimáticas (Fig. 23b); mientras que en *G. roigiana* cada uno de estos haces de fibras se unen al haz vascular en sus extremos ofreciendo el aspecto de cierta continuidad divergentemente, y aparentando una constricción en el extremo de cada uno de sus lados (Fig. 23c).

Inclusiones de oxalato de calcio en forma de cristales arenosos aparecen en el parénquima de la región cortical del pecíolo de *Guettarda calyptrata* y de *G. roigiana*. En *G. clarensis* no se observó la presencia de cristales.



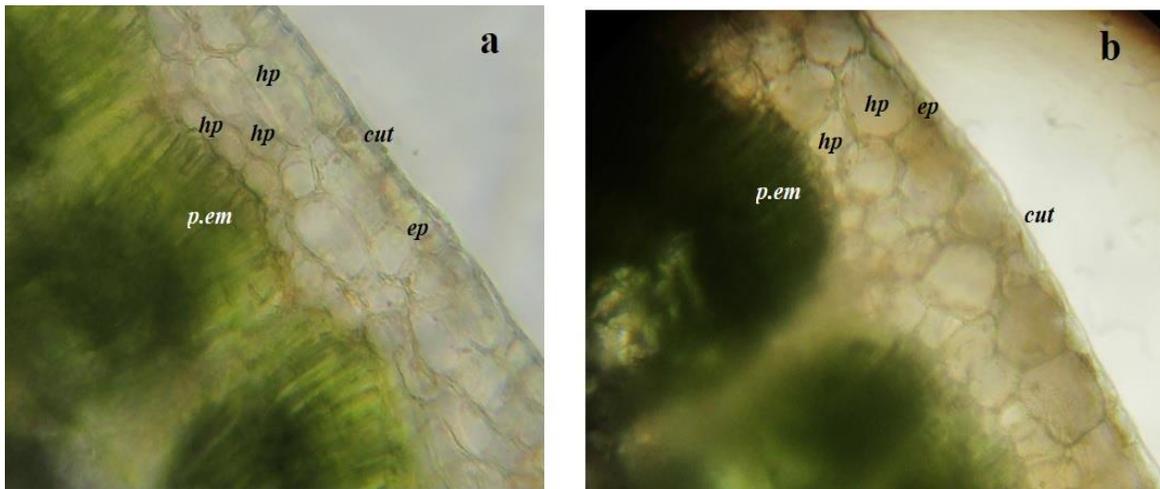
**Figura 23.** Corte transversal del pecíolo muestra el patrón de vascularización: (a) *Guettarda clarensis*, (b) *G. calyptrata* y (c) *G. roigiana*. Obsérvese hacia el centro del haz vascular y en los extremos de *G. calyptrata* y de *G. roigiana* los haces de fibras *hf*. Aumento 400X.

##### Características anatómicas de la lámina foliar

La hoja en las tres especies de *Guettarda* que son objeto de estudio, son hipostomáticas. La epidermis adaxial es pluriestratificada; en *G. clarensis* se presenta una hipodermis de tres estratos de células y la cutícula es gruesa (Fig. 24a). En *G. calyptrata* y *G. roigiana* la

hipodermis cuenta solo con dos estratos celulares y la cutícula es de grosor medio (Fig. 24b). En las tres especies las paredes celulares anticlinales tienen forma sinuosa. El parénquima en empalizada se conforma de un solo estrato de células alargadas y yuxtapuestas formando densos grupos entre las bandas de fibras masivas que acompañan a las venas secundarias.

La vena media constituye un haz vascular del tipo colateral en las tres especies estudiadas. Este forma un arco invertido, que se continúa divergentemente en ambos extremos, con haces adicionales de fibras esclerenquimáticas; también hacia el interior del haz vascular aparecen haces de fibras. La vaina en la vena media, se extiende hacia ambas superficies epidérmicas, acompañada de una masa de colénquima; en la parte inferior, entre esta y el haz vascular se presenta una masa de tejido parenquimatoso. Las venas secundarias se localizan hacia la parte inferior de la lámina foliar, en correspondencia con el carácter prominente de estas; se acompañan de una vaina de fibras que se extiende hasta ambas epidermis, subdividiendo a los parénquimas en el mesofilo.

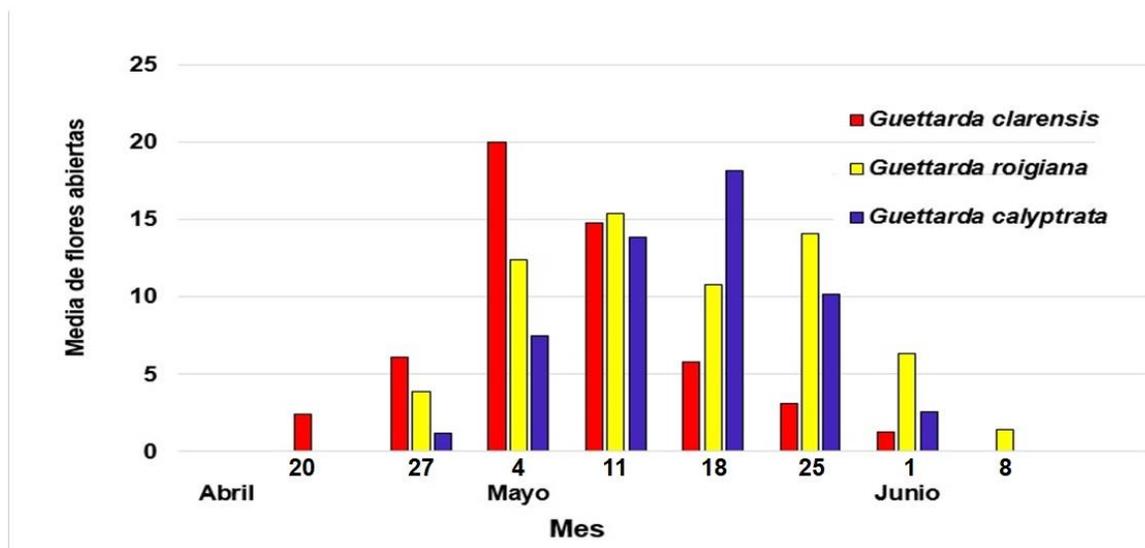


**Figura 24.** Epidermis adaxial de: (a) *Guettarda clarensis* y (b) *G. calytrata*. Cutícula *cut*, epidermis *ep*, hipodermis *hp*, parénquima en empalizada *p.em*. Aumento 400X.

No se observaron inclusiones en forma de cristales arenosos de oxalato de calcio u otra forma de estos en la epidermis, en el mesofilo o en el parénquima acompañante de la vena media de cada una de las especies estudiadas. Con la técnica aplicada no se logró la observación de las estructuras anatómicas en la superficie abxial de las hojas.

## 4.2. Estudio de la fenología reproductiva

En el año 2017 la floración de *Guettarda clarensis* inició entre el 18 y el 22 de abril y concluyó en la primera semana del mes de junio. El inicio de esta fenofase en *G. calyptrata* y *G. roigiana* fue en la última semana del mes de abril y se extendió hasta la primera y la segunda semana de junio respectivamente. *G. clarensis* presentó un pico de floración que se extendió desde el 27 de abril hasta el 18 de mayo. En *G. calyptrata* la mayor floración se registró desde el 4 de mayo hasta el 25 del propio mes. *G. roigiana* presentó dos picos de floración: el primero fue del 4 al 11 de mayo y el segundo del 18 al 25 de mismo mes, este último pico fue menor que el primero (Fig. 25). La fructificación inició en la segunda quincena del mes de junio hasta el mes de agosto. Se observaron frutos en las tres especies estudiadas.



**Figura 25.** Inicio y final de la floración de *Guettarda clarensis*, *G. calyptrata* y *G. roigiana*.

## 5. DISCUSIÓN

### **Caracteres vegetativos intermedios de importancia en la delimitación de *Guettarda roigiana***

La longitud intermedia del pecíolo y su carácter ligeramente canaliculado está relacionado con los valores inferiores y el carácter truncado en *Guettarda clarensis*; el mayor valor y carácter canaliculado corresponde a *G. calyptrata*. Este aspecto se corresponde también con las dimensiones de la lámina foliar y la textura, donde *G. roigiana* alcanza valores intermedios. Estas relaciones de afinidad que se expresan entre *G. roigiana* y sus posibles parentales, *G. clarensis* y *G. calyptrata*, *sensu* (Borhidi y Muñiz, 1971) pueden corresponderse con aspectos hereditarios influenciados por del hábitat de estas últimas. *Guettarda clarensis* crece estrictamente sobre serpentina, con el marcado reforzamiento de características xeromórficas dentro del grupo de estudio; mientras que *G. calyptrata* presenta un mayor espectro ecológico en su hábitat; desde suelos calizos costeros, suelos arenosos en vegetación de sabana, de bosques semidecíduos mesófilo, y de vegetación sobre serpentina.

Estas características morfológicas xerofíticas que se manifiestan en mayor grado en *G. clarensis*, seguido de *G. roigiana* y de *G. calyptrata* pueden relacionarse con los criterios planteados por Borhidi (1996), teniendo en cuenta razones ecológicas y fisiológicas de índole diferente que se presentan como consecuencia no solo de las propiedades físicas del suelo, sino también por la existencia de espacios abiertos ocupados por afloramientos rocosos en las serpentinas; estas condiciones provocan un mayor escurrimiento y pérdida de agua, aspecto que se incrementa por la insolación y el aumento en los valores de temperatura; con ellos la transpiración. En este sentido, se refleja también lo expresado por Borhidi (1996), sobre la concepción de la xeromorfía como un complejo síndrome de adaptación en respuesta al estrés, que se desarrolla como consecuencia de una adaptación ecológica y que se fija genética y morfológicamente en las plantas.

En la venación de la lámina foliar, el curso de las venas secundarias y su forma de anastomosarse, unido a la forma de reticulación de las venas terciarias, tienen significado taxonómico en cada una de las especies. El patrón de venación broquidródomo, permiten delimitar a *Guettarda clarensis* y *G. roigiana* de *G. calyptrata*, si se comparan las venas

secundarias anastomosadas en el margen, donde se unen formando una vena intramarginal con venas secundarias anastomosadas antes del margen, respectivamente. La vena intramarginal puede considerarse como un reforzamiento de los caracteres xeromórficos de adaptación al ambiente de la vegetación de serpentina, que ofrece cierta protección mecánica a la lámina foliar.

### **El indumento y las ceras epicuticulares como evidencia de xeromorfía e importancia taxonómica en *Guettarda roigiana***

En el estudio del indumento, en *G. roigiana* se presenta el carácter tomentoso en la superficie abaxial formado por pelos cortos uncinados, tal como ocurre en *G. clarensis* y en *G. calyptrata*. Sin embargo, este tomento no cubre a las venas secundarias como ocurre en *G. clarensis* y aparecen pelos simples pluricelulares aplicados sobre la superficie de las venas, como en *G. calyptrata*. Estas características del indumento pueden estar relacionadas con el tipo de ambiente donde crecen, tal como lo plantearon Theobald *et al.* (1979) al referir que la gran cantidad y diversidad de tricomas en las plantas en general, es un indicativo de la adaptación de las especies al ambiente xerofítico.

La presencia de ceras epicuticulares en deposiciones granulares relacionan a *G. roigiana* con *G. calyptrata*. En *G. clarensis* se presentan deposiciones continuas sobre la superficie. Este aspecto está relacionado también a mecanismos de protección a las condiciones ambientales derivadas del tipo de sustrato y de exposición a que están sometidas estas especies, lo que corrobora los criterios de Hartmann (1979) y Barthlott y Wollenweber (1981), donde expresan que la presencia de ceras y la densidad de su cobertura en la epidermis de los órganos aéreos de las plantas, está relacionada con la influencia directa de factores ambientales. Este aspecto reafirma la importancia que Wilkinson (1979) plantea para los taxónomos; y se reconoce entre los caracteres diagnósticos de *G. roigiana*.

### **La anatomía del pecíolo y de la lámina foliar como evidencia de caracteres intermedios en *Guettarda roigiana***

La organización del haz vascular en el pecíolo y la presencia de cristales arenosos de oxalato de calcio, unido a la presencia de epidermis con cutícula de grosor medio e hipodermis de dos estratos celulares, tienen importancia para los caracteres diagnósticos de

*Guettarda roigiana* que muestran afinidad con *G. calyptrata*. En *G. clarensis* se aprecia el reforzamiento de caracteres anatómicos xeromórficos en la epidermis adaxial con una hipodermis de tres estratos de células y la cutícula es gruesa.

En general los caracteres anatómicos analizados en cada una de las especies estudiadas muestran adaptaciones al xerofitismo. A estos se suman otros aspectos de importancia en la relación de las plantas y el ambiente seco planteados por Metcalfe y Chalk (1950) para *Rubiaceae*, como la forma sinuosa de las paredes anticlinales de la epidermis, que tienen función mecánica en la lámina foliar en momentos de déficit hídrico; también, el carácter hipostomático de las hojas, que en el caso de las especies estudiadas muestran un reforzamiento en la protección, favorecidos por las venas prominentes y el carácter tomentoso de la superficie de la lámina foliar.

### **El hábito de vida gregario en *Guettarda roigiana***

El hábito de vida gregario en *G. roigiana* ocurre como en *G. clarensis* puede estar también relacionada al ambiente de la vegetación sobre serpentina, donde la escasez de agua es un aspecto determinante, sobre el que Borhidi (1996) refirió el concepto de sequía fisiológica. En general, las plantas inician el período de floración con el inicio de las primeras lluvias de la temporada más húmeda del año, o con las lluvias asociadas a los frentes fríos en el período menos húmedo. Este comportamiento del clima en nuestro país, unido a otros factores ambientales derivados de las características físico geográficas donde se desarrolla la vegetación sobre serpentina, determina que las condiciones ecológicas para la reproducción sexual en las plantas dispone de un tiempo limitado, por lo que se manifiesta la alternativa de emisión de sierpes.

### **Fenología reproductiva y heterostilia**

La floración de las tres especies estudiadas en el 2017 inició entre los meses de abril y mayo este periodo coincide con el inicio de la época lluviosa en Cuba. Como se explicó en párrafos anteriores el inicio de la floración de la mayoría de las plantas que crecen sobre serpentina está vinculado con el período lluvioso. En los años 2011 y 2012 Martínez-Pérez (2013) determino el inicio de la floración de *Guettarda clarensis* los días 19 y 30 de marzo respectivamente. Estos resultados difieren con los encontrados en este estudio para la

misma especie en el 2017, donde el inicio de la floración fue después de la segunda quincena del mes de abril. Esta diferencia puede estar asociada con las variaciones en la temperatura y las precipitaciones, como consecuencias del cambio climático. A pesar de este desfase la floración en ambos estudios se enmarcó en la época lluviosa.

En *Guettarda calytrata* la floración inició cerca de la fecha cuando *G. clarensis* presentó mayor número de flores. En *G. roigiana* y *G. clarensis* el período de floración coincidió en su mayoría. Similares resultados encontró Martínez-Pérez (2017) en el estudio de la relación del vecindario floral con la frecuencia de robo de néctar en *G. clarensis*.

Las tres especies presentan flores con un patrón general similar propio del género *Guettarda*, pero poseen algunas diferencias importantes. En *G. clarensis* las flores son más pequeñas en comparación con las otras dos especies. Esto es consecuencia de que *G. clarensis* es exclusiva del matorral xeromorfo espinoso sobre serpentina y se encuentra por lo general asociada a los afloramientos rocosos. En esta formación vegetal la micrantia que caracteriza la flora cubana se refuerza debido a los altos costos para la reproducción que implican las altas temperaturas y la escasez de agua. Esto corresponde con lo planteado por Reekie y Bazzaz (2005) referente a que el estrés ambiental aumenta los costos en la reproducción en las plantas. Las flores de mayor tamaño corresponden con *G. calytrata* esto puede estar dado por la distribución más amplia que presenta esta especie que abarca ambientes ecológicamente diferentes. En *Guettarda roigiana* el tamaño es la expresión intermedia de las características de las dos especies planteadas como posibles parentales.

*Guettarda clarensis*, *G. calytrata* y *G. roigiana* poseen flores blancas y tubulares, lo que indica que predomina la polinización por lepidópteros y abejas según Faegri y van der Pijl (1966). Esta afirmación coincide con los resultados obtenidos por Martínez-Pérez (2013) y Martínez-Pérez (2017) en el estudio de fenología reproductiva y del vecindario floral de *G. clarensis* donde se señala que los lepidópteros constituyen los principales polinizadores de *G. clarensis* y *G. roigiana*. El hecho de que las especies presenten una morfología floral similar, que coexistan en la misma área, y sus periodos de floración se solapen, son aspectos que permiten inferir la probabilidad de que los polinizadores visiten las flores de las tres especies indistintamente. Esto puede provocar que aumente la posibilidad del cruzamiento entre las ellas. Lo antes planteado fue comprobado por Martínez-Pérez (2017)

quien encontró que los robadores de néctar no diferenciaban entre las flores de cada una de las especies.

En la familia *Rubiaceae* es común la presencia de la heterostilia (Barrett y Richards, 1990). Este polimorfismo surge como un mecanismo para favorecer la polinización cruzada y evitar la autofecundación (Ganders, 1979; Barrett, 1992; Lloyd y Webb, 1992). En *Guettarda clarensis* la heterostilia fue identificada en el estudio realizado por Martínez-Pérez (2013) quien determinó la existencia de dos morfos florales bien definidos. En las poblaciones de *G. clarensis* evaluadas durante la investigación antes mencionada se encontraron individuos homostilos. En *G. roigiana* ocurre de igual manera que en *G. clarensis* se identificaron dos morfos florales y se encontraron individuos homostilos. (Ganders, 1979) ha demostrado que dichos individuos homostilos derivan por recombinación genética de plantas típicamente distilas, por lo que es común encontrarlos en baja frecuencia en sus poblaciones.

Según los resultados los valores de la altura de las anteras y la longitud de la corola aparentan estar relacionados. Las mayores medias de alturas de las anteras corresponden con los mayores valores de longitud de la corola. Por otra parte, las diferencias en la longitud del pistilo entre las especies estudiadas también pueden estar relacionada con la longitud de la corola. La no detección de diferencias durante el análisis para la variable longitud del pistilo entre *G. roigiana* y *G. calyptrata* se debe a que todas las flores recolectadas para este estudio de *G. calyptrata* eran brevistilas.

El comportamiento descrito en el párrafo anterior es característico de especies que presentan dimorfismo estilar; en ellas las anteras se encuentran en la misma posición y difieren en la longitud del pistilo (Lloyd y Webb, 1992). Según algunos modelos evolutivos este dimorfismo es un paso anterior a la aparición de la hercogamia recíproca (Lloyd y Webb, 1992; Sanchez *et al.*, 2010).

## 6. CONCLUSIONES

1. *Guettarda roigiana* es una especie xeromórfica adaptada al ambiente de serpentina con caracteres de tipo morfológicos, micromorfológicos y anatómicos intermedios entre *G. clarensis* y *G. calyptrata*; estos pueden considerarse evidencias del posible origen hibridógeno entre estos taxones.

2. Las dimensiones y forma de la estípula, del pecíolo y de la lámina foliar; unido al curso de las venas secundarias y el patrón de reticulación de las venas terciarias; así como la presencia de indumento y deposiciones granulares de ceras epicuticulares son caracteres diagnósticos morfológicos de carácter vegetativos en la definición de *Guettarda roigiana*.

3. Las longitudes intermedias de las estructuras florales en *Guettarda roigiana*, en relación a *G. clarensis* y *G. calyptrata*, constituyen un carácter diagnóstico para esta especie.

4. La organización del haz vascular en el pecíolo y la presencia de cristales arenosos de oxalato de calcio, unido a la presencia de epidermis con cutícula de grosor medio e hipodermis de dos estratos celulares, son caracteres anatómicos diagnósticos que complementan los caracteres morfológicos de *Guettarda roigiana*.

5. Existe coincidencia en el periodo de floración de *Guettarda roigiana* con relación a *G. clarensis* y *G. calyptrata*, lo que pudiera posibilitar el cruce entre ellas. En las observaciones se apreció el desarrollo de frutos.

## **7. RECOMENDACIONES**

- 1.** Experimentar técnicas de desprendimiento de la epidermis que permita la observación y descripción de las células de este tejido en la superficie abaxial, así como el tipo de estoma.
- 2.** Complementar con estudios de la biología reproductiva de *Guettarda roigiana* que abarque la fenología de la floración teniendo en cuenta la diferenciación entre los morfo florales, la viabilidad de los granos de polen, el sistema reproductivo, y el suceso reproductivo, es decir la formación de frutos y semillas a partir de flores polinizadas naturalmente.
- 3.** Integrar los resultados de los estudios morfológicos y anatómicos a estudios moleculares.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alain, H. (1964) *Flora de Cuba. Tomo V: Rubiales, Valerianales, Cucurbitales, Campanulales, Asterales*. Ciudad de la Habana, Cuba: Publicaciones Asociación de Estudiantes de Ciencias Biológicas, 70-79 pp.
- Álvarez, V. B. (2001) *Biología Evolutiva*. La Habana, Cuba: Editorial Pueblo y Educación 407 pp.
- Arruda, R. d. C. d. O., Gomes, D. M. S., Azevedo, A. C. d., Magerlhas, M. I. y Gomes, M. (2010) Leaf anatomy and micromorphology of six *Posoqueria* Aublet species (Rubiaceae). *Rodriguésia*. 61(3): 505-518.
- Ashman, T. L. y Stanton, M. (1991) Seasonal variation in pollination dynamics of sexually dimorphic *Sidalcea oregana* ssp. *Spicata* (Malvaceae). *Ecology*. 72(3): 993-1003.
- Augspurger, C. K. (1983) Phenology, flowering synchrony and fruit set of six neotropical shrubs. *Biotropica*. 15: 257-267.
- Barrett, S. C. H. y Richards, J. H. (1990) Heterostyly in tropical plants. *Memoirs of the New York Botanical Garden*. 55: 35-61.
- Barrett, S. C. H. (1992) *Evolution and function of heterostyly*. Alemania, Berlin: Springer-Verlag.
- Barrett, S. C. H. y Cruzan, M. B. (1994) Incompatibility in heterostylous plants. En: Williams, E. G. et al. (eds.). *Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants*. pp. 189-219. Dordrech/Boston/London: Kluwer Academic Publisher.
- Barrett, S. C. H. (2002a) Sexual interference of the floral kind. *Heredity*. 88: 154-159.
- Barrett, S. C. H. (2002b) The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews Genetics*. 3: 274-284.
- Barthlott, W. (1981) Epidermal and seed surface characters of plants: systematic applicability and some evolutionary aspects. *Nordi Journal of Botany*. 1: 345-355.

- Barthlott, W. y Wollenweber, E. (1981) Zur Feinstruktur. Chemie und taxonomischen Signifikanz epicuticularer Wachse und ähnlicher Sekrete. *Tropische und subtropische Pflanzenwelt*. 32(1): 97.
- Bécquer, E. R., González-Torres, L. R., Iturralde, R. B. y Amaro, J. E. G. (2004) Flora y Vegetación del afloramiento ultramáfico de San Felipe, Jatibonico, Cuba Central En: Boyd, R. S. *et al.* (eds.). *Memorias de la Cuarta Conferencia Internacional sobre Ecología de Serpentina*. pp. 57-60: Science Reviews.
- Berazaín, R. (1979) *Fitogeografía*. Cuba: Editorial de la Universidad de La Habana, 313 pp.
- Borhidi, A. y Muñiz, O. (1971) *Guettarda roigiana*. *Acta Botanica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 17: 32-33.
- Borhidi, A. y Muñiz, O. (1986) The Phytogeographic Survey of Cuba. II. Floristic Relationships and Phytogeographic Subdivision *Acta Botánica Hungarica*. 32 (1-4): 3-48.
- Borhidi, A. (1996) *Phytogeography and Vegetation Ecology of Cuba*. Budapest: Akadémiai Kiadó, 651 pp.
- Borhidi, A., Fernández-Sequeira, M. y Oviedo-Prieto, R. (2017) *Rubiaceas de Cuba*. Hungría: Akadémiai Kiadó.
- Capote, R. P. y Berazaín, R. (1984) Clasificación de las formaciones vegetales en Cuba. *Revista del Jardín Botánico Nacional*. 5 (2): 27-75.
- Castañeda-Noa, I. (2012) *Coccoloba howardii* (Polygonaceae), a new species from Cuba. *Willdenowia*. 42(1) 95-98.
- Castañeda-Noa, I. (2014) Taxonomía y filogenia del género *Coccoloba* (Polygonaceae) en Cuba. La Habana, Cuba: Universidad de La Habana, pp. 211.
- Cesaro, A. C. y Thompson, J. D. (2004) Darwin's cross-promotion hypothesis and the evolution of stylar polymorphism. *Ecology Letters*. 7: 1209-1215.

- Collin, C. L. y Shykoff, J. A. (2010) Flowering phenology and female fitness: impact of a pre-dispersal seed predator on a sexually polymorphic species. *Plant Ecology*. 206: 1-13.
- Darwin, C. (1877) *The different forms of flowers on plants of the same species*. London, Reino Unido: J. Murray.
- Dilcher, D. (1974) Approaches to the identification of angiosperm leaf remains. *The Botanical Review* 40 (1): 157.
- Echemendía, J. A. R. y Castañeda, I. (2017) Caracterización de la flora sobre serpentina al norte de la provincia de Sancti Spíritus, Cuba. *Acta Botánica Cubana*. 216(2): 42-54.
- Ehrlén, J. (2015) Selection on flowering time in a life-cycle context. *Oikos*. 124: 92-101.
- Elzinga, J. A., Atlan, A., Biere, A., Gigord, L., Weis, A. E. y Bernasconi, G. (2007) Time after time: flowering phenology and biotic interactions. *Ecology and Evolution*. 22(8): 1-9.
- Ellis, B., Daly, D., Hickey, L., Johnson, K., Mitchell, J., Wilf, P. y Wing, S. (2009) *Manual of leaf Architecture*. Nueva York, Estados Unidos: Cornell University Press, 188 pp.
- Faegri, K. y van der Pijl, L. (1966) *The principles of pollination ecology*. Oxford: Pergamon Press Ltd., 248 pp.
- Faife-Cabrera, M. (2014) Ecología del polimorfismo estilar en el género *Melochia* (Malvaceae) en Cuba. Vigo, España: Universidad de Vigo, pp. 107.
- Ferrero, V. (2009) Heterostyly and pollinators in *Plumbago auriculata*. *South African Journal of Botany*. 75: 778–784.
- Ferrero, V. (2014) Heterostilia, ¿qué sabemos hasta el momento? *Ecosistemas*. 23(3): 23-30.
- Font-Quer, P. (1968) *Diccionario de Botánica*. La Habana: Edición Revolucionaria.

- Forrest, J. R. K. (2015) Plant-pollinator interactions and phenological change: what can we learn about climate impacts from experiments and observations? . *Oikos*. 124: 4–13.
- Franco, F., Castañeda, I. y Prieto, R. O. (2004) Flora Ultramáfica de Motembo, Villa Clara, Cuba. En: Boyd, R. S. *et al.* (eds.). *Memorias de la Cuarta Conferencia Internacional sobre Ecología de Serpentina* pp. 65-71: Science Reviews.
- Franco, F., Herrera, P., Castañeda, I., Noa, A. y Oviedo, R. (2016) Motembo, a serpentine center of plant evolution in Cuba and the West Indies. *Métodos en Ecología y Sistemática*. 11(3): 51-74.
- Freitas, L. y Bolmgren, K. (2008) Synchrony is more than overlap: measuring phenological synchronization considering time length and intensity. *Brazilian Journal of Botany*. 31(4): 721-724.
- Ganders, F. R. (1979) The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany*. 17: 607-635.
- González-Torres, L. R., Palmarola, A., Barrios, D., González-Oliva, L., Testé, E., Bécquer, E. R., Castañeira-Colomé, M. A., Gómez-Hechavarría, J. L., García-Beltrán, J. A., Rodríguez-Cala, D., Berazaín, R., Regalado, L. y Granado, L. (2016) Estado de conservación de la flora de Cuba. *Bissea*. 10(número especial 1): 1-23.
- Greuter, W. y Rankin, R. (2017) *Plantas Vasculares de Cuba Inventario preliminar*. Berlin, Germany: Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin-Dahlem, 444 pp.
- Hartmann, H. (1979) Surface structure of leaves: Their ecological and taxonomical significance in members of the subfamily Ruschioideae (Mesembryanthemaceae Fenzl). *Tropische und subtropische Pflanzenwelt*. 28: 31-51.
- Hegland, S. J., Nielsen, A., Lázaro, A., Bjerknes, A.-L. y Totland, Ø. (2009) How does climate warming affect plant-pollinator interactions? *Ecology Letters*. 12: 184-195.
- Hernández-Ramírez, A. M. (2012) Distyly, Floral Visitors, and Fructification in 2 Natural Populations of *Psychotria nervosa* (Rubiaceae). *Ecoscience*. 19(2): 133-139.

- Hickey, L. J. (1998) A revised classification of the architecture of dicotyledoneous leaves. En: Metcalfe, C. R. y Chalk, L. (eds.). *Anatomy of the dicotyledons* pp. 25-39. Oxford: University Press.
- Hiscock, S. J. y McInnis, S. M. (2003) The diversity of self-incompatibility systems in flowering plant. *Plant Biology*. 5(1): 23-32.
- Howard, R. A. (1979) The Petiole. En: Metcalfe, C. R. y Chalk, L. (eds.). *Anatomy of the dicotyledons* pp. 88-95. Oxford: University Press.
- Inouye, D. W. (2008) Effects of climate change on phenology, frost damage, and floral abundance of montane wildflowers. *Ecology*. 82(2): 353-362.
- INPL.org (2018) *The International Plant Names Index*. [En línea] Disponible desde: <http://www.ipni.org>. [Consultado: 10 de febrero de 2018].
- Iturralde, R., Areces, R., Lazcano, F. y González-Torres, J. C. (2005) Lista roja de la flora vascular cubana. *Documentos Jardín Botánico Atlántico (Gijón)*. 4(1): 1-86.
- Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Danforth, D. y Donoghue, M. J. (2016) *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sunderland, MA Sinauer Associates, Inc., 677 pp.
- Lau, P. y Bosque, C. (2003) Pollen flow in the distylous *Palicourea fendleri* (Rubiaceae): an experimental test of the disassortative pollen flow hypothesis. *Oecologia*. 135: 593-600.
- León, H. (1946) *Flora de Cuba*. La Habana: Contribuciones Opcionales del Museo de Historia Natural del Colegio de La Salle, 405 pp.
- Lloyd, D. G. y Webb, C. J. (1992) The evolution of heterostyly. En: Barrett, S. C. H. (ed.). *Evolution and function of heterostyly*. pp. 151-178. Berlin, Alemania: Springer-Verlag.
- Martínez-Pérez, L. (2013) Fenología reproductiva y efecto del robo de néctar en el éxito reproductivo de *Guettarda clarensis*, en Santa Clara, Villa Clara, Cuba. Santa Clara: Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, pp. 59.

- Martínez-Pérez, L. (2017) Relación del vecindario floral con la frecuencia de robo de néctar en *Guettarda clarensis* (Rubiaceae). Santa Clara: Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas.
- McIntosh, M. E. (2002) Flowering phenology and reproductive output in two sister species of *Ferocactus* (Cactaceae). *Plant Ecology*. 159: 1-13.
- Méndez-Orozco, O. R., Faife-Cabrera, M. y Castañeda-Noa, I. (2015) Flora y vegetación de las serpentinas ubicadas al suroeste de Santa Clara, Villa Clara, Cuba. *Revista del Jardín Botánico Nacional*. 36: 55-64.
- Metcalf, C. R. y Chalk, L. (1950) *Anatomy of the Dicotyledons: leaves, stems, and Wood in relation to taxonomy-whith notes on economic uses*. Oxford: Oxford Clarendon Press, 1498 pp.
- Noa, A. y Castañeda, I. (1998) Flora de las serpentinitas de Santa Clara *Revista del Jardín Botánico Nacional*. 19: 67-87.
- Payne, W. W. (1978) A Glossary of Plant Hair Terminology *Brittonia*. 30(2): 239-255.
- Peña, E. y Saralegui, H. (1992) *Técnicas de Anatomía vegetal*. La Habana, Cuba: Editorial Pueblo y Educación, 100 pp.
- Reekie, E. G. y Bazzaz, F. A. (2005) *Reproductive allocation in plants*. California: Elsevier Academic Press, 247 pp.
- Richard, A. (1850) Rubiaceae. En: Sagra, R. d. I. (ed.). *Historia Física Política y Natural de la Isla de Cuba*. pp. 21. Paris.
- Routley, M. B., Bertiny, R. I. y Husband, B. C. (2004) Correlated Evolution Of Dichogamy And Self-Incompatibility: A Phylogenetic Perspective. *International Journal of Plant Biology*. 165(6): 983-993.
- Sakai, S., Nagamitsu, T., Momose, K., Yumoto, T., Nagamasu, H., Nakashizuka, A. T. y Hamid, A. A. (1999) Plant reproductive phenology over four years including an episode of general flowering in a lowland dipterocarp forest, Sarawak, Malaysia. *American Journal of Botany*. 86(10): 1414-1436.

- Samek, V. (1973) Regiones Fitogeográficas de Cuba. *Serie Forestal*. 15: 1-60.
- Sampson, D. A. y Krebs, R. A. (2012) Quantitative evaluation of reciprocal herkogamy in the distylous species, *Hedyotis caerulea* (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution*. 298: 1361–1370.
- Sanchez, J. M., Ferrero, V., Arroyo, J. y Navarro, L. (2010) Patterns of style polymorphism in five species of the South African genus *Nivenia* (Iridaceae). *Annals of Botany*. 1-11.
- Schindelin, J., Rueden, C. T. y Hiner, M. C. (2015) The ImageJ ecosystem: An open platform for biomedical image analysis. *Molecular Reproduction and Development*.
- Stone, J. L. y Thomson, J. D. (1994) The evolution of distyly: pollen transfer in artificial flowers. *Evolution*. 48: 1595-1606.
- Terra-Araujo, M. H., Webber, A. C. y Vicentini, A. (2012) Pollination of *Pagamea duckei* Standl. (Rubiaceae): A functionally dioecious species. *Biota Neotropica*. 12(4): 98-104.
- Theobald, W. L., Krahulik, J. L. y Rollins, R. C. (1979) Trichome description and classification. En: Metcalfe, C. R. y Chalk, L. (eds.). *Anatomy of the dicotyledons*. pp. 40-53. Oxford: Clarendon Press.
- Tropicos.org (2018) *Tropicos*. [En línea] Disponible desde: <http://www.tropicos.org>. [Consultado: 10 de febrero de 2018].
- Vílchez, B., Chazdon, R. y Alvarado, W. (2008) Fenología reproductiva de las especies del dosel en bosques secundarios y primarios de la región Huetar Norte de Costa Rica y su influencia en la regeneración vegetal *Revista Forestal*. 5(15): 1-18.
- Watanabe, K., Shimizu, A. y Sugawara, T. (2013) Dioecy derived from distyly and pollination in *Psychotria rubra* (Rubiaceae) occurring in the Ryukyu Islands, Japan. *Plant Species Biology*. 11.
- Weller, S. G. (2009) The different forms of flowers what have we learned since Darwin? . *Botanical Journal of the Linnean Society*. 160: 249-261.

- Whittaker, R. J. y Fernández-Palacios, J. M. (2007) *Island biogeography. Ecology, evolution, and conservation*. Oxford: Oxford University Press.
- Wilkinson, H. P. (1979) The plant surface (mainly leaf). Part VII, Epicuticular wax and its morphology. En: Metcalfe, C. R. y Chalk, L. (eds.). *Anatomy of the dicotyledons: systematic anatomy of the leaf and stem*. pp. 276. New York: Oxford University Press.
- Willmer, P. (2012) Ecology: pollinator-plant synchrony tested by climate change. *Current Biology*. 22: 131-140.