

# Variabilidad morfológica en seis poblaciones de *Phyllanthus orbicularis* (*Phyllanthaceae*), especie endémica de Cuba

## Morphological variability in six populations of *Phyllanthus orbicularis* (*Phyllanthaceae*), endemic species from Cuba

Banessa Falcón Hidalgo<sup>1\*</sup>, Dennys de Vales Fernández<sup>2</sup> y Susy Fuentes Bazan<sup>3</sup>

### RESUMEN

*Phyllanthus orbicularis* es una planta endémica cubana que crece en la mayoría de las regiones serpentínicas del país, sus extractos han demostrado excelentes propiedades antimutagénicas y antivirales. Durante la revisión de materiales de herbario, bibliografía especializada y observaciones en el campo, se encontraron diferencias morfológicas entre los ejemplares de *P. orbicularis*, entre los que se diferenciaba un grupo de plantas de Cuba nororiental del resto de las plantas encontradas en las otras regiones del país. El presente estudio tuvo como objetivo comprobar la existencia de diferencias morfológicas entre las variantes de *P. orbicularis* que permitieran su separación o no en taxones independientes. Para ello se visitaron las poblaciones: Cajálbana (Pinar del Río), Galindo (Mayabeque), Los Caneyes (Villa Clara), Ceja de Melones, La Cueva y Yamanigüey (Holguín). En cada región se tomaron muestras de ramas, flores y frutos de 10 individuos por población. Se realizaron comparaciones entre las plantas de dichas localidades en cuanto a caracteres morfológicos vegetativos y reproductivos, tanto cualitativos como cuantitativos, estos últimos soportados estadísticamente. Los resultados obtenidos probaron la existencia de caracteres distintivos en las plantas de La Cueva y Yamanigüey de las del resto de las localidades analizadas, como son: longitud y número de hojas de las ramas floríferas, forma de la lámina de las hojas, así como el color y dimensiones de las flores.

**Palabras clave:** morfometría geométrica, Elípticos de Fourier, serpentinas

### ABSTRACT

*Phyllanthus orbicularis* is a Cuban endemic plant that grows in most of the serpentine regions of Cuba and has been shown to have excellent antimutagenic and antiviral properties. During the review of herbarium sheets, specialized literature and observations on the field, morphological differences were found between the specimens of *P. orbicularis*, among which a group of plants from the northeastern Cuba region differed from the rest of the plants found in the other regions from the country. The present study had as objective to verify the existence of morphological differences between the variants of *P. orbicularis* that allowed their separation or not in independent taxa. The populations of Cajálbana (Pinar del Río), Galindo (Mayabeque), Los Caneyes (Villa Clara), Ceja de Melones, La Cueva and Yamanigüey (Holguín) were visited. In each region samples of branches, flowers and fruits of 10 individuals by population were taken. Comparisons were made between the plants of these localities in terms of vegetative and reproductive morphological characters, both qualitative and quantitative, the latter being statistically supported. The results obtained proved the existence of distinctive characters in the plants of La Cueva and Yamanigüey from those of the other localities analyzed, which were: length and number of leaves of the flowering branches, form of the leaves, as well as the color and dimensions of the flowers.

**Keywords:** geometric morphometry, elliptical of Fourier, serpentine

**Recibido:** octubre 2017 **Aceptado:** enero 2018

Publicado online 25 de agosto de 2018. ISSN 2410-5546 RNPS 2372 (DIGITAL) - ISSN 0253-5696 RNPS 0060 (IMPRESA)

### INTRODUCCIÓN

*Phyllanthus* L. es el género con mayor número de especies de la familia *Phyllanthaceae* Martinov (Judd & *al.* 2016). Las plantas de este género, en general, se caracterizan por presentar un patrón de ramificación llamado ramificación filantoidea, en el cual las hojas del eje principal de la planta están reducidas a catafilos, mientras que las ramas de los ejes plagiotrópicos son floríferas y con frecuencia deciduas (Webster 1956-1958). Este género es de gran importancia principalmente por su uso medicinal como antiviral (Álvarez & Del Barrio 2008) y a la vez con propiedades diuréticas (Cuéllar & Franco 1980),

antioxidantes, antiinflamatorias, inmuoestimulantes y anticonceptivas (Joseph & Raj 2011). Adicionalmente, algunas especies tienen la capacidad de acumular metales pesados por lo que pueden ser utilizadas como marcadores de contaminación (Reeves & *al.* 1999). En Cuba, *Phyllanthus* está representado por 49 especies, de las cuales cerca de un 70% son endémicas (Greuter & Rankin 2017).

*Phyllanthus orbicularis* Kunth es una especie endémica de Cuba que solo habita en suelos sobre serpentina, donde suele ser común (Webster 1956-1958) y ha sido de las más estudiadas del género en Cuba debido a sus aplicaciones en la medicina. Específicamente se demostró *in vitro* que extractos acuosos y alcohólicos de *P. orbicularis* provocan una disminución de la infectividad de algunos virus a partir de la inhibición de la replicación viral (Gutiérrez 2011, Álvarez & Del Barrio 2008, Del

<sup>1</sup>Jardín Botánico Nacional, Universidad de La Habana, Carretera "El Rocio" km 3½, Calabazar, Boyeros, La Habana, Cuba. C.P. 19 230.

<sup>2</sup>Dpto. de Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Calle 25, N° 455, Vedado, La Habana, Cuba. C.P. 10 400.

<sup>3</sup>Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin-Dahlem, Freie Universität Berlin, Germany. \*Autor para correspondencia (e-mail: [banessa@fbio.uh.cu](mailto:banessa@fbio.uh.cu))

Barrio & al. 2014). Asimismo, Ferrer & al. (2001) y Alonso & al. (2010) encontraron que extractos acuosos de esta planta presentan propiedades antimutagénicas.

Webster (1956-1958), señaló la presencia de dos variantes de *Phyllanthus orbicularis* en Cuba: una oriental y otra occidental. Este autor se basó en caracteres vegetativos como el número de hojas por ramas y el patrón de nervadura de las mismas, y en caracteres reproductivos como las dimensiones de estructuras florales. Sin embargo, no reconoció ninguna categoría infraespecífica, aunque en la clave dicotómica de las especies del género para las Indias Occidentales propuso dos salidas para identificar a cada variante. Durante la revisión de materiales de herbario, en el estudio del género para la obra Flora de la República de Cuba, los ejemplares pertenecientes a esta especie pueden ser separados a simple vista en dos grupos morfológicamente diferentes que coinciden con lo sugerido por Webster (*op. cit.*). Por esta razón se hace necesario hacer un estudio más profundo que brinde elementos suficientes para confirmar dichas observaciones.

Actualmente, la morfometría geométrica es una herramienta muy útil que puede apoyar la clasificación de especies de plantas, particularmente en poblaciones con estatus taxonómico dudoso, así como la comprensión de la variabilidad intraespecífica (Shipunov & Bateman 2005, Neustupa & Stastny 2006). Hernández (2014), concluyó que el empleo del análisis de contorno de la lámina de las hojas es más eficiente para la clasificación de especies de plantas, mientras que el análisis con puntos clave permite visualizar y caracterizar mejor las diferencias en la forma de las hojas.

La presencia de las variantes de *Phyllanthus orbicularis* planteadas por Webster (1956-1958) no se han tenido en cuenta en los estudios sobre sus propiedades medicinales. De esta forma la composición de los extractos pudiera variar en su efectividad antiviral o antimutagenica, debido a que en realidad se utilizaría una variante de esta especie que pudiera ser otro taxón. Es por esta razón que el estudio a profundidad del estado taxonómico, para descifrar si estas variantes se tratan de dos taxones, es de gran importancia.

Además, la presencia de nuevos taxones representaría cambios en la distribución actual de *Phyllanthus orbicularis*, lo cual tiene implicaciones en el estado de conservación de la especie. Por lo anterior este trabajo tiene como objetivo comprobar si existen diferencias morfológicas entre las variantes occidental y oriental de *P. orbicularis* propuestas por Webster (1956-1958) que evidencien su posible separación en taxones independientes, a partir del análisis de caracteres morfológicos y el empleo de la morfometría geométrica.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

Para este estudio se realizaron recolectas de *Phyllanthus orbicularis* en seis localidades de Cuba, de los que se depositó un ejemplar testigo de cada sitio en el Herbario "Johannes Bisse" del Jardín Botánico Nacional (HAJB) (Tabla I). Para los estudios morfológicos vegetativos, en cada sitio visitado se tomaron tres ramas de 10 individuos, ubicadas en la región media de las plantas. Para los caracteres florales se seleccionaron 10 flores de cada sexo en cada localidad visitada, una de cada sexo por individuo (excepto de Galindo donde las plantas que no estaban florecidas en el momento de

**TABLA I**

**Localidades visitadas y especímenes testigo de las plantas de *Phyllanthus orbicularis* recolectadas para este estudio**

**TABLE I**

**Localities visited and voucher specimens of *Phyllanthus orbicularis* plants collected for this study**

Localidad	Provincia	Formación vegetal (según Capote y Berazaín [1984])	Fecha de recolecta	Especimen testigo (en HAJB)
Cajalbana	Pinar del Río	Matorral xeromorfo espinoso sobre serpentina	28.VIII.2015	Falcón & al. HFC 88467
Lomas de Galindo	Mayabeque-Matanzas	Matorral xeromorfo espinoso sobre serpentina	23.II.2016	de Vales HFC 88724
Los Caneyes	Villa Clara	Matorral xeromorfo espinoso sobre serpentina	19.I.2016	de Vales HFC 88723
Ceja de Melones	Holguín	Matorral xeromorfo espinoso sobre serpentina	23.VII.2015	Falcón & al. HFC 88400
La Cueva	Holguín	Matorral xeromorfo subespinoso sobre serpentina	24.X.2015	de Vales & al. HFC 88673
Yamanigüey	Holguín	Matorral xeromorfo subespinoso sobre serpentina	25.VII.2015	Falcón & al. HFC 88402

la recolecta y de La Cueva donde solo se pudieron recolectar dos flores femeninas y nueve masculinas). Se recolectaron frutos y semillas de tres localidades: tres frutos y seis semillas en Los Caneyes, seis frutos y seis semillas en Ceja de Melones y ocho frutos y seis semillas en Yamanigüey. Las flores y frutos recolectados fueron conservados en alcohol al 70% para su posterior análisis.

De cada individuo se evaluaron los siguientes caracteres:

- Planta: hábito, tamaño, patrón de ramificación (según Webster [1956-1958]).
- Ramas floríferas: número de hojas por rama, color, longitud.
- Hojas: disposición; estípulas (posición, forma, longitud); pecíolo (forma, longitud); lámina (dimensiones [largo, ancho, relación largo/ancho], textura, forma incluyendo ápice, base y margen; haz y envés: nervadura, color, indumento). Las características de forma y venación en la lámina se realizaron según lo planteado por Hickey (1974).
- Inflorescencias: tipo, posición en la rama, posición de las flores
- Flores masculinas: pedicelo (longitud); simetría; cáliz (concrecencia, número de piezas, forma, tipo de ápice, base y margen; dimensiones de la pieza mayor del cáliz [largo, ancho, y relación largo/ancho], nervadura; disco [posición, forma, coloración]). Estambres: número, posición, concrecencia, longitud; filamentos: concrecencia, partes libres (forma, tamaño, longitud).
- Flores femeninas: pedicelo (longitud); simetría; cáliz (concrecencia, número de piezas, forma, base y margen, dimensiones de la pieza mayor del cáliz, nervadura; disco [posición, forma, coloración]). Ovario: posición, forma, dimensiones (altura y diámetro), número de carpelos; estilos (número, forma, longitud de la concrecencia y longitud de la parte libre).
- Frutos: tipo, forma, tamaño, número de semillas.
- Semillas: forma, ornamentación y dimensiones (largo, longitud radial y tangencial) (según Webster [1956-1958]).

La longitud de las ramas y del pecíolo se midieron con una regla graduada ( $\pm 1$  mm). Para las variables foliares se seleccionaron tres hojas por individuo y se midieron sus dimensiones directamente con la herramienta *Measurement* del programa *AMScope 3.7* ( $\pm 0,01$  mm) y el largo de las estípulas y las dimensiones de flores se midieron con la herramienta *Measurement* del programa *Digital Microscope Suite 2.0* ( $\pm 0,01$  mm).

Los frutos se midieron con un pie de rey ( $\pm 0,1$  mm), mientras que las semillas con la herramienta *Measurement* del programa *ScopelImage 9.0* (x5) ( $\pm$  de 0,01 mm).

### **Morfometría geométrica**

Para el análisis morfométrico de 10 individuos por localidad se seleccionaron 10 hojas sin el contorno dañado y sin incluir el pecíolo. Las imágenes digitales de las hojas se obtuvieron con un escáner (resolución de 400 dpi) con un fondo blanco para aumentar el contraste de la imagen y se importaron como archivos de mapa de bits (24 bits, Color Blanco y Negro 75%, Brillo +20 y Contraste +40). Para el análisis del contorno se utilizó el programa *SHAPE 1.3* con sus subprogramas: *ChainCoder*, *Chc2Nef*, *PrinComp* y *PrinPrint* según la metodología de Iwata & Ukai (2006).

El primer paso en el análisis de los contornos de las hojas fue la obtención de un código de cadena generado en *ChainCoder*. Este subprograma se basa en la descripción de la información geométrica a partir de una imagen binaria (blanco y negro) (Freeman 1974) de la cual se obtiene una numeración del cero al siete que se conoce como código de cadena y que se basa en un sistema de coordenadas XY.

A partir del código de cadena se calcularon los coeficientes de los descriptores elípticos de Fourier (DEF), en el *Chc2Nef*, basado en la elipse del primer armónico (Kuhl & Giardina 1982). Los coeficientes fueron normalizados para eliminar las diferencias de tamaño, posición, rotación y punto de partida del trazado del contorno entre las diferentes hojas, de este modo se pudo analizar solo las variaciones en la forma del contorno. Dicho procedimiento permitió caracterizar la forma de cada hoja mediante los primeros 20 armónicos según lo sugerido por Iwata & Ukai (2006), correspondientes a 40 coeficientes de los DEF normalizados, respectivamente.

Los coeficientes normalizados de los DEF no pueden ser usados directamente como características de contorno de la hoja, pues el número de coeficientes es muy grande (80 para cada hoja) y el significado morfológico de cada uno es difícil de interpretar. En este caso se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) en el *PrinComp* para resumir la información de los coeficientes, según lo propuesto por Rohlf & Archie (1984). Este análisis se basó en la matriz de varianza-covarianza de los coeficientes, y para cada individuo se calculó la media de los Coeficientes Elípticos de Fourier de sus hojas, datos que fueron utilizados para el análisis de componentes principales.

La variación en forma que es explicada por cada componente principal se observó mediante la reconstrucción gráfica de los contornos en el subprograma *PrinPrint*. El contorno para cada componente (media  $\pm$  desviación estándar) se reconstruyó por transformación inversa de Fourier de los coeficientes calculados (Furuta & al. 1998). En este procedimiento, los coeficientes de los

DEF fueron calculados de forma tal que el puntaje para cada componente principal sea igual a la media  $\pm$  dos veces la desviación estándar (que es la raíz cuadrada del autovalor del componente) y los puntajes de los componentes restantes sean cero.

### Análisis estadístico

Las variables empleadas para la comparación mediante análisis estadístico entre las plantas de *Phyllanthus orbicularis* de las diferentes localidades fueron: número de hojas por rama florífera; longitud de las ramas floríferas; largo, ancho y relación largo/ancho de la lámina de las hojas; longitud del pedicelo; largo, ancho y relación largo/ancho de la pieza mayor del cáliz; longitud de concrescencia de los estambres; longitud de los filamentos libres de los estambres; altura y diámetro del ovario; longitud de concrescencia de los estilos; longitud a la que se bifurcan los estilos; longitud total de los estilos; altura y diámetro del fruto; largo, longitud radial y tangencial de las semillas. En el caso de las variables vegetativas se calculó la moda o la mediana del número de hojas por rama florífera y la media de la longitud de las ramas floríferas, del largo de la lámina de las hojas, del ancho de la lámina de las hojas y de la relación largo/ancho de la lámina de las hojas.

En cada variable analizada se verificó el ajuste a las premisas de normalidad y homogeneidad de varianzas. Las variables número de hojas por rama florífera, longitud del pedicelo de las flores femeninas y longitud de concrescencia de los estilos no cumplieron con las premisas de normalidad y homogeneidad de varianzas. Con los valores de las variables que se ajustaron a las premisas, se realizaron Análisis de Varianza (ANOVA) de clasificación simple modelo de efectos fijos seguidos de comparación múltiple de medias de Tukey. Las variables que no cumplieron con las premisas para realizar pruebas paramétricas se analizaron mediante ANOVAs de clasificación simple por rangos (Prueba de Kruskal-Wallis) seguidos de pruebas de comparación múltiple de rangos (Prueba de Dunn). En cada caso el nivel de significación empleado fue  $\alpha=0,05$ .

Para visualizar las diferencias en cuanto al contorno de la lámina de la hoja entre las plantas estudiadas en las localidades muestreadas se realizó un ACP a partir de las medias de los coeficientes de los descriptores elípticos de Fourier. Asimismo, para analizar la variación entre las plantas de *Phyllanthus orbicularis* de las diferentes localidades estudiadas a partir de las características de las flores femeninas (longitud del pedicelo, largo de la pieza mayor del cáliz, ancho de la pieza mayor del cáliz, altura del ovario, diámetro del ovario, altura a la que se separan los estilos, altura a la que se bifurcan los estilos y longitud total del estilo) y de las flores masculinas (longitud del pedicelo, largo de la pieza mayor del cáliz,

ancho de la pieza mayor del cáliz, altura a la que se separan los estambres, longitud de los filamentos libres de estambres), se realizó un ACP respectivamente. Los datos fueron analizados con los programas *Past 2.17*, *Statistica 7.0* y la herramienta (*add-ins*) *PopTools 3.23* del *MSEXcel*.

### RESULTADOS

Las plantas de *Phyllanthus orbicularis* son arbustos de 0,5-2 m de alto con ramificación filantoidea. Los ejes principales de las plantas son de color gris pardusco y en determinadas regiones la corteza puede romperse en pequeñas placas. Las hojas de los ejes principales están reducidas a catafilos y sólo se presentan verdaderas hojas (nomofilos) en las últimas divisiones, en cuyas axilas se encuentran las inflorescencias. Estas últimas divisiones, llamadas ramas floríferas, se encuentran articuladas a los ejes principales, son más finas que el resto de los ejes de la planta y presentan un número variable de hojas entre las plantas de *P. orbicularis* de las diferentes localidades analizadas (Figura 1A). Las ramas floríferas son de una coloración parduzca y su longitud varía entre las diferentes regiones de Cuba (Figura 1B).

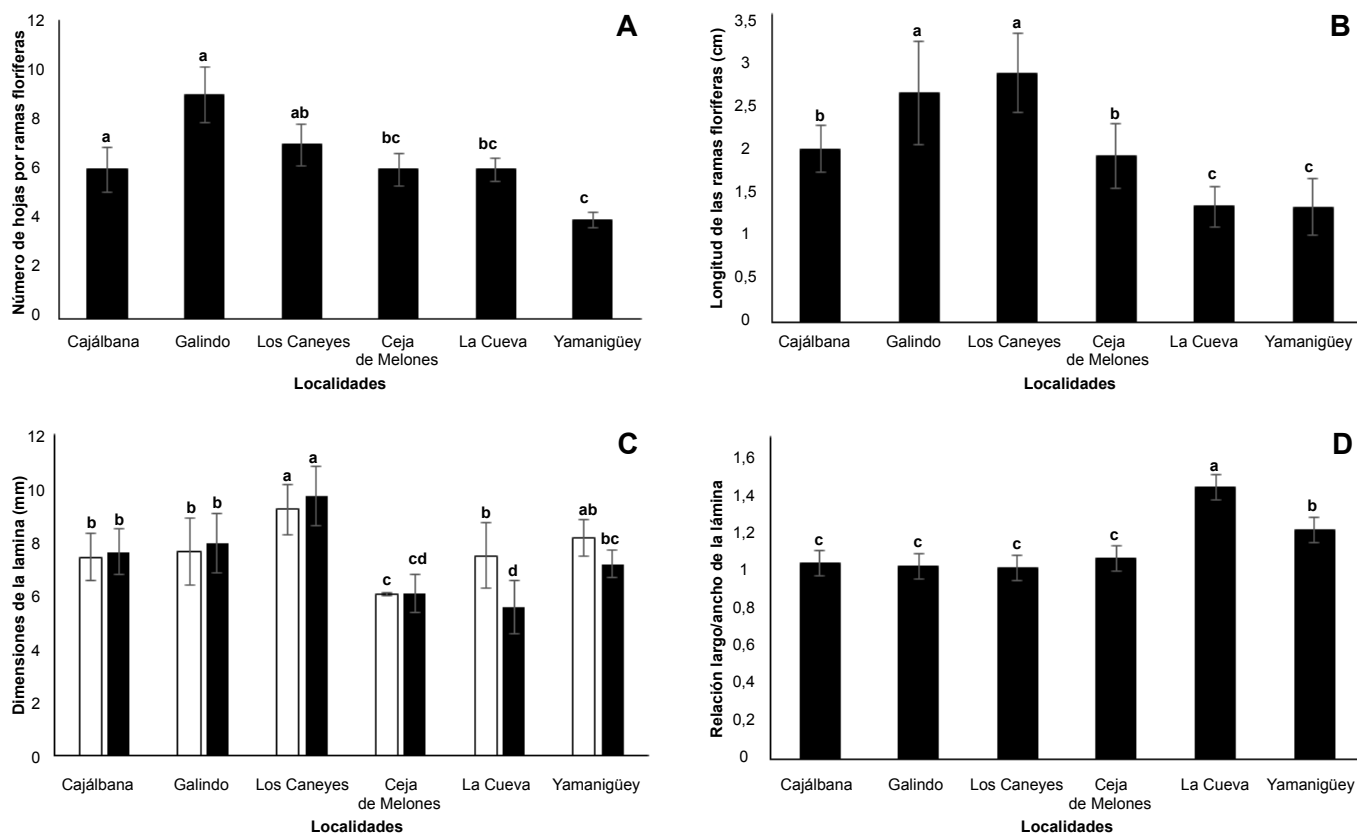
Las hojas de *Phyllanthus orbicularis* son alternas con dos estípulas lanceoladas en la base del pecíolo. Las estípulas pueden ser más del doble de largas que el pecíolo, el cual es corto y cilíndrico, por lo general de 1 mm de largo. Las dimensiones de la lámina de las hojas varían significativamente entre los grupos de plantas analizadas (Figura 1C), que como promedio es de  $7,64 \pm 0,85$  mm de largo por  $7,34 \pm 0,88$  mm de ancho. Sin embargo, la relación largo/ancho de la lámina de las hojas en las plantas de Cajálbana, Galindo, Los Caneyes y Ceja de Melones es significativamente menor que en las hojas de La Cueva y Yamanigüey (Figura 1D).

En el caso de las plantas de Cajálbana, Galindo, Los Caneyes y Ceja de Melones la lámina de las hojas es cartácea, delgada, entera y tiende a ser oblata, por lo general hendidas en el ápice y la base, con margen ligeramente reflexo hacia el envés. La lámina de las hojas de las plantas de La Cueva y Yamanigüey, por otro lado, es coriácea, gruesa, entera y por lo general ligeramente espatulada con el ápice redondeado, la base aguda y el margen plano.

En todas las localidades estudiadas las hojas y ramas jóvenes de *Phyllanthus orbicularis* pueden ser rojizas y las láminas de las hojas son glabras con nervadura reticulada. Sin embargo, en las plantas de Cajálbana, Galindo, Los Caneyes y Ceja de Melones la nervadura es claramente visible a ambos lados de la lámina, la haz es verde oscura, el envés un poco más claro y en todos los casos el borde en general es rojizo (Figura 2A); mientras que en las plantas de La Cueva y Yamanigüey

la nerviación generalmente solo se hizo evidente por el envés, la haz es verde oscura y el envés grisáceo y el borde en la adultez es amarillento (Figura 2B).

La reconstrucción del contorno de la lámina de las hojas muestra como los primeros dos componentes principales describen la variación en la forma y cuanto aporta cada uno a esta variación (Figura 3).



**Fig. 1.** Variabilidad de tres caracteres vegetativos en plantas de *Phyllanthus orbicularis* de seis localidades de Cuba. **A.** Número de hojas por rama florífera. **B.** Longitud de las ramas floríferas. **C.** Largo (columnas blancas) y ancho (columnas negras) de la lámina. **D.** Relación largo/ancho de la lámina. Las letras encima de las barras representan las diferencias estadísticamente significativas entre las localidades ( $p < 0,05$ ) según: Prueba de Dunn (A) y Prueba de Tukey (B, C, D).

**Fig. 1.** Variability of three vegetative characters in plants of *Phyllanthus orbicularis* from six localities of Cuba. **A.** Number of leaves per floriferous branch. **B.** Length of floriferous branches. **C.** Long (white columns) and wide (black columns) of the blade. **D.** Long / width ratio of the blade. The letters on the bars represent the statistically significant differences between localities ( $p < 0,05$ ) after: Dunn Test (A) and Tukey Test (B, C, D).



**Fig. 2.** Ramas floríferas de *Phyllanthus orbicularis* en dos localidades de Cuba. **A.** Los Caneyes, Santa Clara, Villa Clara. **B.** Yamanigüey, Moa, Holguín. Barras de escala: 1,0 cm. Fotos: Banessa Falcón.

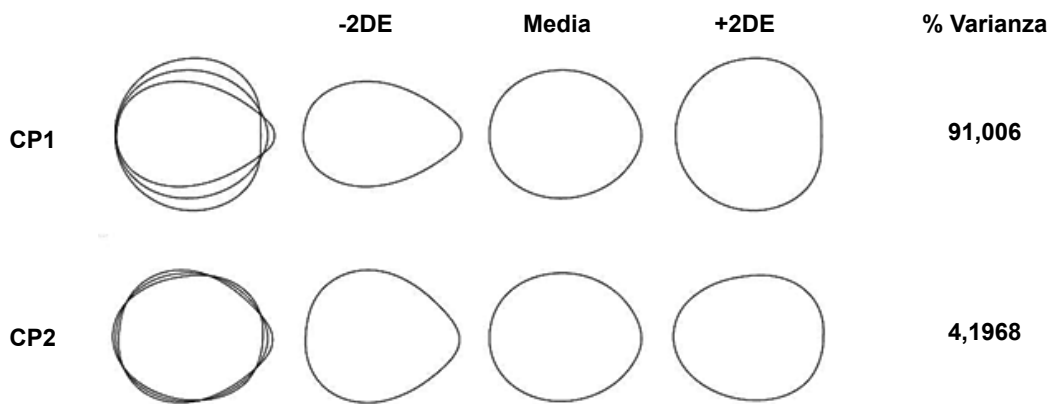
**Fig. 2.** Flower branches of *Phyllanthus orbicularis* in two localities of Cuba. **A.** Los Caneyes, Santa Clara, Villa Clara. **B.** Yamanigüey, Moa, Holguín. Scale bars: 1.0 cm. Photos: Banessa Falcón.

La forma de la lámina de la hoja varía desde orbicular hasta obovada. El primer componente explica la variabilidad en el ancho y la base de la lámina de las hojas entre las regiones estudiadas, lo que representa el 91,006 % de la varianza (Figura 3). El segundo componente explica solo la variación de la base de la lámina de las hojas y su aporte a la varianza total es de 4,1968 %, (Figura 3). Ambos componentes explican más del 95% de varianza total.

El ACP realizado con los coeficientes de los descriptores elípticos de Fourier refleja la separación de las localidades en cuanto al contorno de las láminas de las hojas de las plantas de *Phyllanthus orbicularis* analiza-

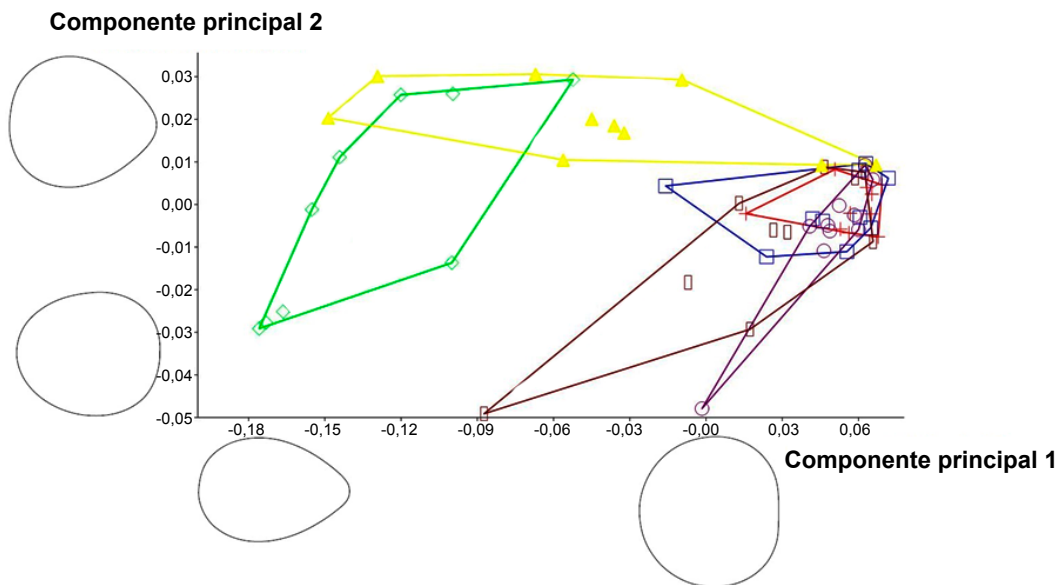
das (Figura 4). Los individuos de Cajálbana, Galindo, Los Caneyes y Ceja de Melones tienden a la forma orbicular de la lámina de la hoja y no difieren entre sí en cuanto a este carácter. Por otro lado, los individuos de La Cueva y Yamanigüey presentan una tendencia hacia la forma obovada explicada por cada componente y se separaron del resto.

Las plantas de *Phyllanthus orbicularis* presentan inflorescencias de tipo cúlula. Estas se encuentran en las axilas de las hojas de las ramas floríferas y en general son bisexuales con solo una flor femenina en cada una. Las flores masculinas presentan un pedicelo cuya longitud es variable entre las plantas



**Fig. 3.** Reconstrucción gráfica de los contornos de las láminas de las hojas de *Phyllanthus orbicularis* de seis localidades de Cuba. Se muestra la forma media  $\pm$  2DE (desviación estándar) de los dos primeros componentes principales (CP1 y CP2) obtenida por transformación inversa de Fourier.

**Fig. 3.** Graphic reconstruction of the outline of blade of the leaves of *Phyllanthus orbicularis* in six localities of Cuba. Mean form  $\pm$  2SD (standard deviation) of the first two main component (PC1 and PC2) obtained by inverse Fourier transformation is shown.



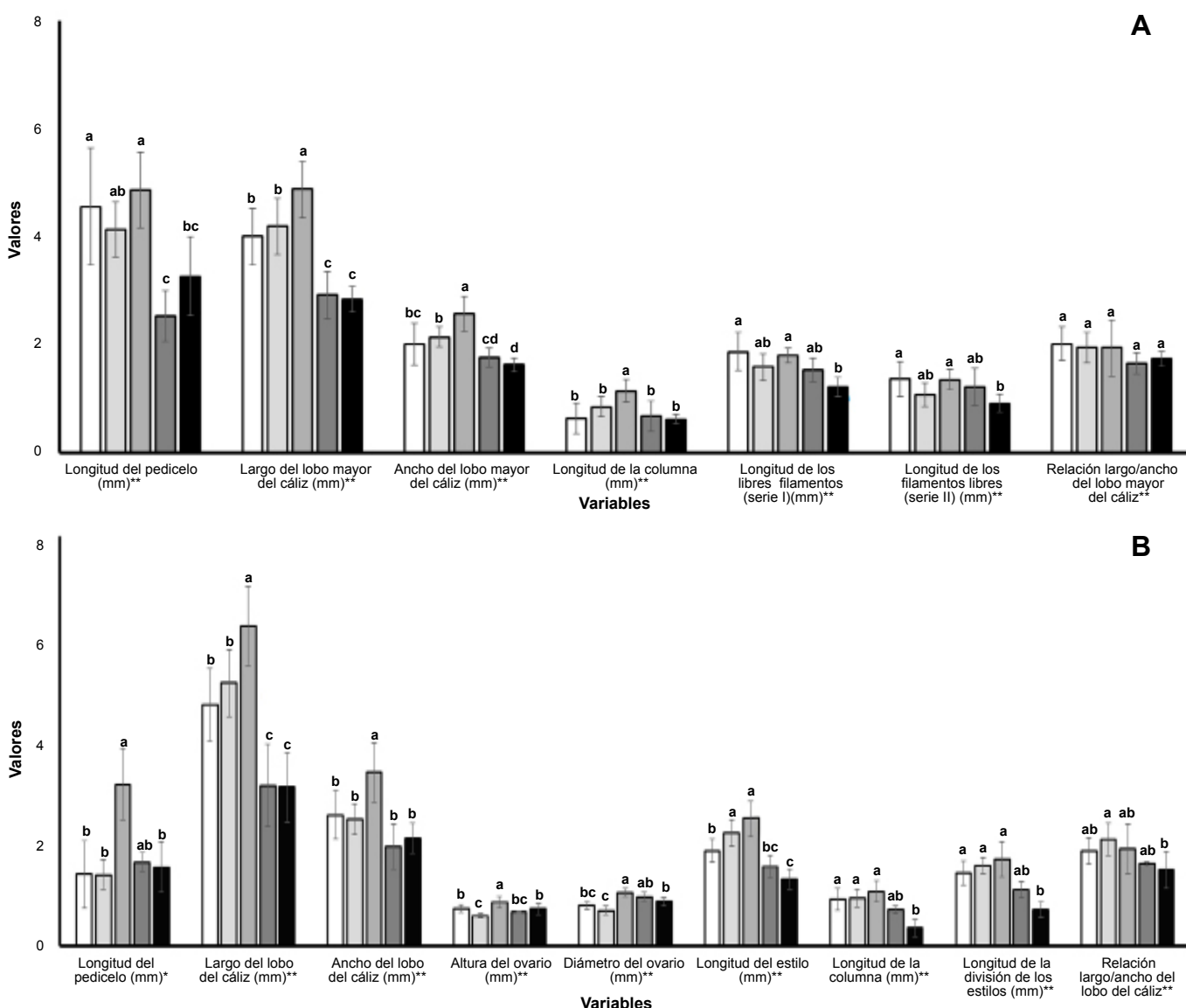
**Fig. 4.** Análisis de Componentes Principales de los Coeficientes Elípticos de Fourier para 20 armónicos que caracterizan la forma de la lámina de la hoja de *Phyllanthus orbicularis* de seis localidades de Cuba. Se muestra la reconstrucción del contorno (media  $\pm$  desviación estándar) que explica cada componente principal. + Cajálbana. □ Galindo. ○ Los Caneyes. ◻ Ceja de Melones. ◇ La Cueva. △ Yamanigüey.

**Fig. 4.** Principal Components Analysis of the Elliptic Fourier Coefficients for 20 harmonics that characterize the blade form of the leave of *Phyllanthus orbicularis* from six localities of Cuba. The reconstruction of the contour (standard deviation) that explains each main component is shown. + Cajálbana. □ Galindo. ○ Los Caneyes. ◻ Ceja de Melones. ◇ La Cueva. △ Yamanigüey.

de las diferentes localidades estudiadas (Figura 5A). En el caso de las flores masculinas de las plantas de Cajálbana, Ceja de Melones y Los Caneyes los pedicelos son de longitudes similares y muestran diferencias significativas respecto a las plantas de La Cueva y Yamanigüey (Figura 5A).

Las flores masculinas de *Phyllanthus orbicularis* tienen una simetría radial y carecen de corola. Las piezas del cáliz fusionadas en la base son por lo general 6, raramente 5 o 7, con segmentos de forma elíptica y el ápice generalmente redondeado (Figura 6). Las piezas del cáliz de las flores masculinas de *P. orbicularis* de

Cajálbana, Los Caneyes y Ceja de Melones son por lo general rosadas y significativamente más largas y anchas que las piezas del cáliz de las flores de La Cueva y Yamanigüey, que mayormente son blanco amarillentas (Figura 6 A-C). La relación largo/ancho de las piezas del cáliz de las flores masculinas no presentan diferencias estadísticamente significativas entre las localidades de *P. orbicularis* estudiadas; sin embargo, esta relación es mayor en las plantas de Cajálbana, Los Caneyes y Ceja de Melones en comparación con las de La Cueva y Yamanigüey. Las piezas del cáliz presentan la vena media poco ramificada, aunque la venación de forma general es poco visible.



**Fig 5.** Variabilidad de caracteres cuantitativos en las flores masculinas (A) y femeninas (B) de *Phyllanthus orbicularis* de cinco localidades de Cuba. Para cada variable, de izquierda a derecha, las localidades representadas son: Cajálbana, Los Caneyes, Ceja de Melones, La Cueva y Yamanigüey. Las letras encima de las barras representan las diferencias estadísticamente significativas entre las localidades ( $p < 0,05$ ) según: Prueba de Dunn (\*) y Prueba de Tukey (\*\*).

**Fig. 5.** Variability of quantitative characters in male (A) and female (B) flowers of *Phyllanthus orbicularis* from five localities of Cuba. For each variable, from left to right, the represented localities are: Cajálbana, Los Caneyes, Ceja de Melones, La Cueva and Yamanigüey. The letters above the bars represent the statistically significant differences between the localities ( $p < 0,05$ ) after: Dunn Test (\*) and Tukey Test (\*\*).

En la mayoría de las flores masculinas analizadas el número de segmentos del disco nectarífero coincide con el número de piezas del cáliz, por lo que el disco generalmente es de forma hexagonal. El disco se encuentra en la base de los estambres y es de color rojo (Figura 6 A-C). En las flores masculinas de Cajálbana (Figura 6A), Los Caneyes (Figura 6B), Ceja de Melones y La Cueva los segmentos del disco nectarífero se presentan separados individualmente, unidos en pares, tríos o fusionados completamente. En el caso de las flores masculinas de *P. orbicularis* de Yamanigüey los segmentos del disco nectarífero se encuentran por lo general separados individualmente (Figura 6C).

Las flores masculinas de *Phyllanthus orbicularis* presentan por lo general 6 estambres, raramente 3, 4, 5 o 7. Los estambres por lo general están unidos en una columna hasta determinada altura donde se separan y los filamentos libres se diferencian en dos grupos según su longitud (Figura 6 A-C). Los filamentos son cilíndricos y en sus extremos distales presentan una antera con dos tecas. Las flores masculinas

de *P. orbicularis* de la localidad de Yamanigüey se distinguen del resto de las localidades analizadas por presentar los extremos de los filamentos libres de los estambres más cortos. Las flores masculinas de las plantas de Ceja de Melones presentan mayor longitud de concrecencia de los estambres y se diferencian significativamente del resto de las flores masculinas de las localidades analizadas (Figura 5A). En Yamanigüey, estas difieren significativamente de las de Cajálbana, Los Caneyes y Ceja de Melones en relación a la serie más larga de filamentos libres de los estambres (serie I), pero no en cuanto a las flores masculinas de La Cueva. En el caso de la segunda serie de filamentos libres (serie II), se diferencian significativamente las flores masculinas de Yamanigüey de las de Cajálbana y Ceja de Melones, pero no de las de Los Caneyes y La Cueva (Figura 5A).

El IACP de las variables longitud del pedicelo, dimensiones de las piezas del cáliz y dimensiones de los estambres en flores masculinas de *Phyllanthus orbicularis* entre cinco localidades de Cuba, muestra la separación en dos grupos bien definidos: uno con los valores de las



**Fig. 6.** Flores de *Phyllanthus orbicularis* de tres localidades en Cuba: Cajálbana, La Palma, Pinar del Río (A [♂] y D [♀]); Los Caneyes, Santa Clara, Villa Clara (B [♂] y E [♀]); Yamanigüey, Moa, Holguín (C [♂] y F [♀]). Barras de escala: 1,0 cm. Fotos: Banessa Falcón.

**Fig. 6.** Flowers of *Phyllanthus orbicularis* from three localities in Cuba: Cajálbana, La Palma, Pinar del Río (A [♂] y D [♀]); Los Caneyes, Santa Clara, Villa Clara (B [♂] y E [♀]); Yamanigüey, Moa, Holguín (C [♂] y F [♀]). Scale bars: 1.0 cm. Photos: Banessa Falcón.

plantas de Cajálbana, Los Caneyes y Ceja de Melones y el otro con los de las plantas de La Cueva y Yamanigüey (Figura 7).

Los pedicelos de las flores femeninas de *Phyllanthus orbicularis* varían en relación a su longitud entre las diferentes localidades estudiadas. La longitud de los pedicelos de las flores femeninas de las plantas de Ceja de Melones es significativamente mayor (casi el doble) que los del resto de las plantas de las localidades excepto de los de La Cueva (Figura 5B). Por otro lado, en todas las localidades las flores presentan simetría radial y carecen de corola, cáliz con las piezas fusionadas en la base y el número de piezas es generalmente seis. Los lobos del cáliz son generalmente elípticos con el ápice redondeado y varían desde rosados en las flores de Cajálbana (Figura 6D), Los Caneyes (Figura 6E) y Ceja de Melones hasta blancas amarillentas en La Cueva y Yamanigüey (Figura 6F).

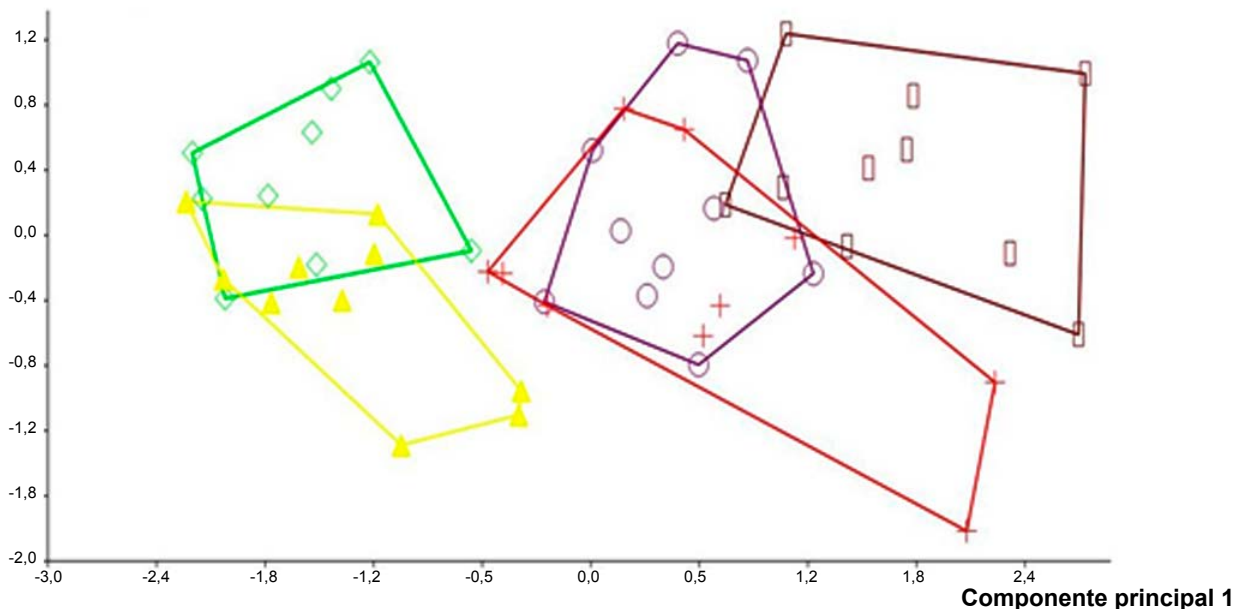
Las flores femeninas de *Phyllanthus orbicularis* de Yamanigüey y La Cueva presentan piezas del cáliz significativamente menos largas (un tercio) que las flores femeninas del resto de las localidades (Figura 5B). El ancho de las piezas del cáliz de las flores femeninas de *P. orbicularis* de Ceja de Melones difiere significativamente del resto de las flores analizadas (Figura 5B). Las piezas del cáliz de las flores femeninas de *P. orbicularis* de Cajálbana, Los

Caneyes y Ceja de Melones llega a presentar hasta el doble de largo que de ancho y esta relación fue mayor que en las piezas del cáliz de las flores de La Cueva y Yamanigüey. Sin embargo, solo existen diferencias significativas entre la relación largo/ancho de las piezas del cáliz de las flores de Los Caneyes y Yamanigüey (Figura 5B). El disco nectarífero de las flores femeninas en la base del ovario es hexagonal, de color rojo y los segmentos siempre fusionados.

Todas las flores femeninas analizadas presentan ovarios súperos y generalmente subglobosos. Las flores de Ceja de Melones y La Cueva presentan ovarios con mayor diámetro que las de Cajálbana, Los Caneyes y Yamanigüey (Figura 5B). Los ovarios están formados por tres carpelos y tres estilos bifidos con los extremos revolutos, por lo general unidos en una columna hasta determinada altura (Figura 6 D-F). En los extremos de los estilos se pueden observar al estereoscopio que existen pequeñas estructuras glandulares que constituyen el estigma. Los estilos de las flores femeninas de *P. orbicularis* de Cajálbana, Los Caneyes y Ceja de Melones son de mayor tamaño (un tercio) que los estilos de las flores femeninas de La Cueva y Yamanigüey (Figura 5B).

El ACP de las variables: longitud del pedicelo, dimensiones de las piezas del cáliz, dimensiones del ovario y dimensiones de los estilos de las flores femeninas de *Phyllanthus orbicularis* en cinco localidades de Cuba,

**Componente principal 2**



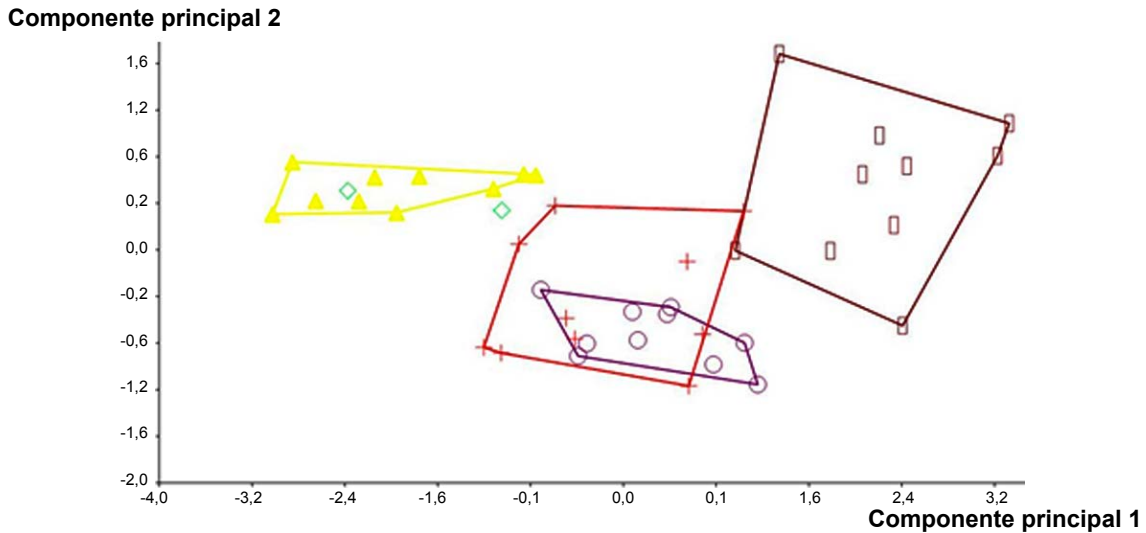
**Fig. 7.** Análisis de Componentes Principales de los caracteres: longitud del pedicelo, dimensiones de las piezas libres del cáliz (largo y ancho) y dimensiones de los estambres (longitud de concrescencia, longitud de las series I y II de filamentos libres) de las flores masculinas de *Phyllanthus orbicularis* de cinco localidades de Cuba. + Cajálbana. o Los Caneyes. □ Ceja de Melones. ◇ La Cueva. Δ Yamanigüey.

**Fig. 7.** Principal Components Analysis of the characters: Length of the pedicel, dimensions of the free pieces of the calice (long and wide) and dimensions of the stamens (concrecence length, length of series I and II of the free filaments) of the male flowers of *Phyllanthus orbicularis* from five localities of Cuba. + Cajálbana. o Los Caneyes. □ Ceja de Melones. ◇ La Cueva. Δ Yamanigüey.

permite comprobar cómo se separan en tres grupos: el primero (Cajálbana y Los Caneyes), el segundo (Ceja de Melones) y el tercero (Yamanigüey y La Cueva) (Figura 8).

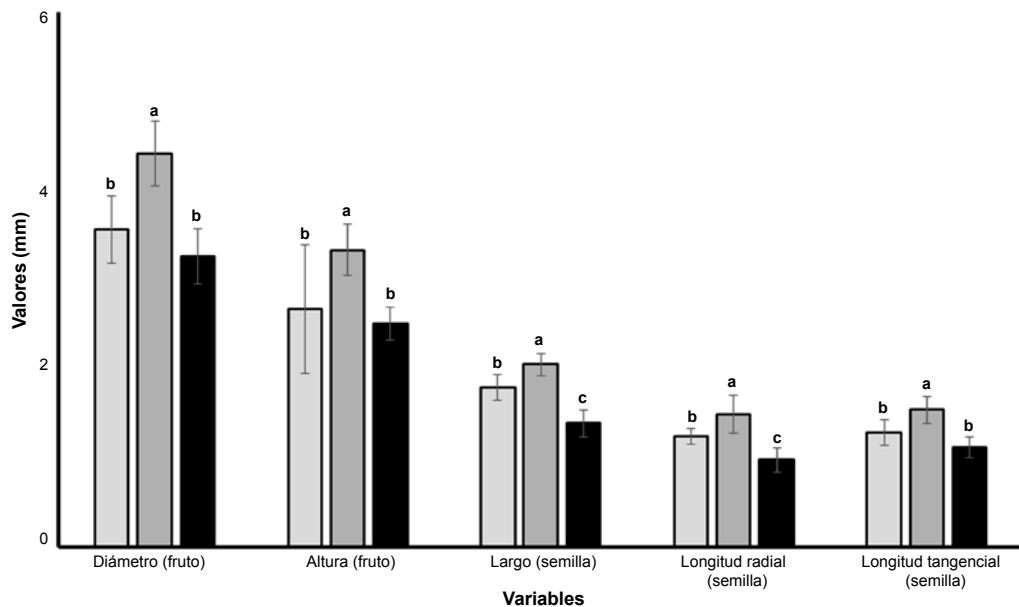
Los frutos de *Phyllanthus orbicularis* son cápsulas de forma ligeramente ovoide, ya que por lo general el

diámetro fue mayor que el alto. Los frutos de las plantas de Ceja de Melones son estadísticamente los de mayor tamaño entre las localidades analizadas (Figura 9). En los frutos analizados las piezas del cáliz permanecieron unidas a este y presentaron seis semillas. Las semillas analizadas son trígonoas y verrugosas, formadas por dos caras laterales y una dorsal. Las caras laterales tienen



**Fig. 8.** Análisis de Componentes Principales de los caracteres: longitud del pedicelo, dimensiones de las piezas del cáliz (largo, ancho), dimensiones del ovario (altura, diámetro) y dimensiones de los estilos (longitud de concrescencia, altura a la que se bifurcan, longitud total) de las flores femeninas de *Phyllanthus orbicularis* de cinco localidades de Cuba. + Cajálbana. ○ Los Caneyes. □ Ceja de Melones. ◇ La Cueva. △ Yamanigüey.

**Fig. 8.** Principal Components Analysis of the characters: Length of the pedicel, dimensions of the free pieces of the calyx (long and wide), dimensions of ovary (long and diameter) and dimensions of styles (concrecence length, height at forking, total length) of the female flowers of *Phyllanthus orbicularis* from five localities of Cuba. + Cajálbana. ○ Los Caneyes. □ Ceja de Melones. ◇ La Cueva. △ Yamanigüey.



**Fig. 9.** Variabilidad de caracteres cuantitativos en los frutos y las semillas de *Phyllanthus orbicularis* de tres localidades de Cuba. Para cada variable de izquierda a derecha las localidades representadas son: Los Caneyes, Ceja de Melones y Yamanigüey. Las letras encima de las barras representan las diferencias estadísticamente significativas entre las localidades,  $p < 0,05$ .

**Fig. 9.** Variability of quantitative characters in fruits and seeds of *Phyllanthus orbicularis* from three localities of Cuba. For each variable from left to right the represented localities are: Los Caneyes, Ceja de Melones, and Yamanigüey. The letters above the bars represent the statistically significant differences between the localities,  $p < 0,05$ .

forma semicircular con un lado relativamente recto por donde se unen a la columela del fruto, un lado superior que forma un arco y el lado inferior que se une al lado recto formando un ángulo agudo, la cara dorsal tiene forma triangular. Las superficies dorsales y laterales de las semillas presentan pequeñas verrugas. Las semillas de las plantas de Yamanigüey son de menor tamaño que las de Ceja de Melones y Los Caneyes, estas diferencias son significativas (Figura 9).

## DISCUSIÓN

La longitud de las ramas floríferas, el número de hojas por rama florífera y la forma de las hojas son caracteres de importancia en la separación de varias especies de *Phyllanthus*, como demostró Webster (1956-1958). Las diferencias observadas en estos caracteres vegetativos entre las poblaciones de *P. orbicularis* estudiadas podrían explicarse por las particularidades de las localidades donde habitan estas plantas. Aunque todas se encuentran en formaciones vegetales similares (matorrales xeromorfos sobre serpentina), la flora presente en estas localidades ha evolucionado bajo condiciones diferentes (Borhidi 1991). Este autor planteó que existen dos factores de gran importancia que han influido en la evolución de la flora de las serpentinas de Cuba: (1) la edad del sustrato y (2) el número de cambios climáticos ocurridos en estos sitios.

El número de hojas por rama florífera fue variable entre las plantas analizadas en las diferentes localidades estudiadas (Figura 1A), sólo en Yamanigüey fueron observadas plantas con cuatro hojas por rama florífera. La reducción del número de hojas por rama en esta localidad puede deberse a una estrategia para disminuir la pérdida de agua por transpiración. Algo similar fue referenciado por Dickison (2000) en plantas que viven en ambientes xeromorfos, es decir, donde la retención del agua en el suelo es escasa y es necesario minimizar la pérdida de esta a través de las hojas. A pesar de que todas las plantas habitan en ambientes similares, esto tiene sentido ya que según Panfet & al. (1986), el matorral de Yamanigüey se pudiera considerar como un tipo muy xeromorfo debido a la influencia del mar y a lo esquelético del suelo.

Las plantas de Ceja de Melones y La Cueva presentan similar número de hojas por rama florífera (6), lo que puede deberse a las relaciones que se supone existan entre las floras de serpentina de los alrededores de la ciudad de Holguín y Nipe, ya que estas localidades presentan floras similares como refiere Borhidi (1991). En las localidades de Cajálbana, Galindo y Los Caneyes el número de hojas por ramas (entre 7 y 9) es mayor que en el resto de las localidades estudiadas, lo que pudiera deberse a las menores temperaturas de las regiones occidental y central de Cuba con respecto a la

oriental, así como a la influencia de la radiación solar, ya que estos factores ambientales pueden influir en el número de hojas de las plantas de forma general (Taiz & Zeiger 1991).

Las plantas de las localidades La Cueva y Yamanigüey presentan las ramas floríferas más cortas (1,5 cm) de las localidades analizadas (Figura 1B). Estas diferencias podrían explicarse a partir de las características peculiares de cada región en relación con las condiciones extremas de estrés hídrico que pudieran presentar. Según Taiz & Zeiger (1991), las plantas pueden modificar la longitud de sus ramas en ausencia de agua lo cual pudiera explicar las diferencias de este carácter entre las plantas de *Phyllanthus orbicularis* de las diferentes localidades analizadas. Debido a las condiciones de estrés hídrico que predominan en las serpentinas, la reducción de la longitud de las ramas floríferas pudiera ser un mecanismo de adaptación, que se evidencia en la reducción de la longitud de los haces vasculares lo que puede garantizar un transporte más eficiente del agua hacia los nomofilos.

Las serpentinas de Nipe y Moa son de las más antiguas de Cuba, con cerca de 30 millones de años (Borhidi 1991); por tanto, las plantas de esta zona han tenido mayor tiempo para adaptarse a las condiciones xeromorfas que en otras serpentinas del país. Sin embargo, la serpentina de Cajálbana es tan antigua como las de Nipe y Moa (Borhidi 1991), y este estudio revela que las plantas de *Phyllanthus orbicularis* de esta localidad no presentan ramas floríferas tan reducidas como las de La Cueva y Yamanigüey (entre 2,0 y 2,8 cm). En el caso de Nipe y Moa también existe otro factor que puede haber influido en la evolución de la flora de estas zonas, ya que en ellas el número de cambios climáticos ocurridos ha sido mayor que en el resto de las serpentinas de Cuba. Según Borhidi (*op.cit.*), se supone que en estas regiones existía hace millones de años un clima tropical que fue alterado por la alternancia de largos períodos de lluvia y seca. Ante estos cambios es posible que las plantas mejor adaptadas a estas condiciones de estrés, como las que presentan ramas más cortas, se hayan favorecido y logrado permanecer en estas zonas.

Las serpentinas de Galindo, Los Caneyes y Ceja de Melones pertenecen al grupo de las más jóvenes de Cuba con cerca de 1 millón de años (Borhidi 1991). Las plantas de *Phyllanthus orbicularis* de Galindo y Los Caneyes presentan las ramas floríferas más largas de las serpentinas de Cuba (más de 2,6 m), mientras que las de Ceja de Melones presentan ramas floríferas similares en longitud a las de Cajálbana (entre 2 y 2,5 cm). Borhidi (*op.cit.*), planteó que la flora de las serpentinas de los alrededores de la ciudad de Holguín es muy semejante a la de Nipe, por lo que es posible que se haya

originado a partir de esta. Esta relación podría explicar cómo la longitud de las ramas floríferas de *P. orbicularis* en Ceja de Melones es menor que las del resto de las plantas de las serpentinadas jóvenes y se asemeja a las de serpentinadas antiguas como Cajálbana, sin llegar a los extremos de Nipe y Moa.

El grosor y textura de las hojas de las plantas de *Phyllanthus orbicularis* es otro carácter que difiere entre las diferentes localidades. Las hojas de las plantas de Cajálbana, Galindo, Los Caneyes y Ceja de Melones son generalmente cartáceas y delgadas mientras que las de La Cueva y Yamanigüey son coriáceas y más gruesas. El mayor grosor en las hojas de las plantas de *P. orbicularis* de La Cueva y Yamanigüey puede estar relacionado con una adaptación al almacenamiento de agua debido a las características de estas localidades. Un mayor grosor de las hojas puede implicar que sin que se aumente el área foliar exista mayor espacio para el almacenamiento de agua, ya que el aumento del área foliar puede significar mayor superficie y pérdida de agua por transpiración (Dickison 2000).

Las dimensiones de la lámina de la hoja de las plantas de *Phyllanthus orbicularis* de las diferentes localidades no difieren entre sí (Figura 1C); sin embargo, la relación largo/ancho de la lámina de las hojas si varía (Figura 1D). Según Hickey (1974), esta relación puede explicar la forma de la lámina de la hoja por lo que se describen formas desde orbiculada hasta oblata en el caso de las plantas de *P. orbicularis* de Cajálbana, Galindo, Los Caneyes y Ceja de Melones y obovadas anchas en las plantas de La Cueva y Yamanigüey. Estos resultados de forma de la hoja coinciden con la reconstrucción de los contornos de las hojas, realizado por transformación inversa de los Coeficientes de los Descriptores Elípticos de Fourier (Figura 3).

Webster (1956-1958), planteó que la forma obovada de la lámina de la hoja en la variante oriental de *Phyllanthus orbicularis* pudiera deberse a la introgresión de caracteres desde *P. comosus*. Esta especie crece en la localidad de Yamanigüey y presenta una hoja espatulada; sin embargo, la hibridación entre *P. comosus* y *P. orbicularis* en esta localidad parece poco probable ya que no han sido observados ejemplares con caracteres intermedios de ambas. Por otro lado, existen regiones del oriente donde se encuentran plantas de *P. orbicularis* con láminas de las hojas de forma obovada fuera del rango de distribución de *P. comosus* (e.g., La Cueva). No obstante, se podrían realizar estudios de genética poblacional que permitan comparar las poblaciones de *P. orbicularis* con láminas de las hojas de forma obovadas entre localidades con y sin la presencia de *P. comosus* para ver si difieren entre sí. Webster (1956-1958) también sugirió que las similitudes entre

ambas especies se podían deber a cercanías evolutivas. Adicionalmente, la forma de la hoja espatulada representa una reducción del área foliar con respecto a la forma orbiculada, por lo que esta puede ser una estrategia para disminuir la pérdida de agua por transpiración. La reducción del área foliar es una estrategia común en plantas que se encuentran en condiciones xeromorfas como se ha planteado por varios autores (Taiz & Zeiger 1991, Cutler & al. 2007).

En este estudio se pudo observar que los caracteres reproductivos de las plantas analizadas son de gran importancia en la separación de las especies y junto a los caracteres vegetativos permiten la diferenciación de las plantas de *Phyllanthus orbicularis* de Yamanigüey y La Cueva de las del resto de las localidades. Los principales caracteres reproductivos que permiten esta diferenciación son el color de las flores y las dimensiones de estambres y estilos.

La longitud de los pedicelos de las flores masculinas de *Phyllanthus orbicularis* se diferencian entre ambas variantes (Figura 5A). La variabilidad de la longitud del pedicelo de las flores es un carácter de gran importancia en la identificación de especies de *Phyllanthus*, ya que según Webster (1956-1958) permite diferenciar las especies de este género de otros relacionados como el género *Savia*. De igual forma, Webster (*op. cit*) empleó este carácter para diferenciar especies de la sección *Orbicularia* del género *Phyllanthus*.

El color y las dimensiones de las piezas del cáliz de las flores masculinas de *Phyllanthus orbicularis* de La Cueva y Yamanigüey son diferentes de las flores masculinas de las plantas del resto de las localidades. En este caso, las diferencias en contraste de colores y dimensiones de los lobos del cáliz podrían estar relacionados con la atracción diferencial de polinizadores. El tamaño de las flores influye en la selección de los polinizadores de forma general en las plantas (Faegri & van der Pijl 1979). Por ejemplo, Kugler (1943), planteó que la distancia a la cual las flores generan atracción visual sobre abejorros es directamente proporcional al diámetro de la flor. Las diferencias entre las dimensiones de los lobos del cáliz entre las flores de *P. orbicularis* de las diferentes localidades no solo influyen en el tamaño de la flor sino también en la forma de esta. La forma de la flor y su simetría pueden tener gran implicación en la atracción de polinizadores como referencian Gómez & al. (2008), donde diferentes polinizadores discriminan entre diferentes formas de la corola dadas por la forma de los pétalos.

También el disco nectarífero de las flores masculinas de *Phyllanthus orbicularis* mostró diferencias en relación al grado de fusión de los segmentos entre las plantas

de las diferentes localidades (Figura 6 A-C). En las plantas de La Cueva y Yamanigüey el disco nectarífero presenta segmentos separados individualmente y esta configuración puede crear un efecto extra de reclamo sobre los polinizadores, ya que además del contraste de colores, también se pueden definir formas distintas a las presentes en los discos de las plantas de otras localidades. La segmentación de las estructuras florales también tiene importancia en la selección de polinizadores cómo plantearon Faegri & van der Pijl (1979), ya que algunos polinizadores como los abejorros prefieren flores con estructuras segmentadas. En *P. orbicularis* las configuraciones de los segmentos del disco nectarífero pueden ser múltiples, aunque predominan los segmentos en pares, esta variabilidad de configuraciones podría determinar mayor diversidad de posibles polinizadores y por tanto estar en correspondencia con la amplia distribución de esta especie.

En las flores masculinas de *Phyllanthus orbicularis* los estambres se presentan en dos series; pero en las plantas de Ceja de Melones, los estambres presentan mayor longitud que en las plantas de La Cueva y Yamanigüey en ambas series. La presencia de dos series de estambres de diferente longitud pudiera estar relacionado con abarcar un mayor rango de tamaño en los polinizadores, de modo que el contacto entre las anteras y el cuerpo de los insectos sea más eficiente y se garantice el transporte de polen. En este caso, la diferencia de longitud de las dos series de estambres entre las plantas de La Cueva y Yamanigüey y las del resto de las localidades, puede contribuir a la diferenciación por tamaño de los polinizadores en ambos grupos. Pequeños cambios en el sistema de polinización pueden deberse a ligeras variaciones en las dimensiones florales y pueden llegar a ser suficientes para separar taxones relacionados (Faegri & van der Pijl 1979).

El ACP de las variables cuantitativas evaluadas en flores masculinas de *Phyllanthus orbicularis* entre las localidades muestra como se diferencian entre sí (Figura 7). Las plantas de Ceja de Melones, aunque no se separan completamente del resto de las plantas de *P. orbicularis*, si muestran una tendencia a presentar valores máximos (Figura 5A) dentro de las plantas de esta especie. Este resultado coincide con lo planteado Webster (1956-1958), donde refiere que las poblaciones de *P. orbicularis* de los alrededores de Holguín presentan las flores de mayor tamaño de las poblaciones analizadas en este estudio.

Según Borhidi (1991), existen grandes similitudes entre la flora de serpentina de los alrededores de Holguín (e.g., Ceja de Melones) y la de Nipe (e.g., La Cueva), lo cual puede sugerir que en algún momento constituían un mismo complejo que se fraccionó. Si esta hipótesis

fuera cierta la presencia de estos caracteres distintivos en *Phyllanthus orbicularis* de Ceja de Melones pueden ser producto de un proceso de especiación que está ocurriendo del este al oeste como la migración de la flora de Cuba en general (Borhidi 1991). Las plantas de Ceja de Melones y de La Cueva pudieran haber constituido un mismo taxón y haber compartido inicialmente una misma área geográfica. Por la acción de fuerzas evolutivas como las mutaciones y selección natural se podrían haber diferenciado los dos grupos actuales y haber ocurrido un proceso de reforzamiento de caracteres, en el cual las diferencias surgidas se acentúan para garantizar el aislamiento reproductivo y evitar la hibridación (Butlin 2012). Este proceso puede haber estado seguido de la aparición de alguna barrera física que garantizaría el aislamiento geográfico. Esta hipótesis se puede sustentar en algunas de las similitudes en caracteres vegetativos que existen entre las plantas ambas localidades. Asimismo, existen en el oriente de Cuba algunos indicios del accidente geográfico que pudo separar ambas regiones como la presencia de masas de tierra que tienden al descenso entre Nipe y Holguín (Iturralde-Vinent 2007).

En relación con los colores y dimensiones del cáliz de las flores femeninas de *Phyllanthus orbicularis* existen diferencias entre las localidades que pueden estar relacionados con el reclamo de los polinizadores. Las plantas de las localidades estudiadas presentan discos nectaríferos de color rojo; sin embargo, el color del cáliz es diferente. Las plantas de Cajálbana (Figura 6D), Galindo, Los Caneyes (Figura 6E) y Ceja de Melones presentan un cáliz generalmente rosado, por lo tanto el contraste entre este y el disco es menor comparado con las de La Cueva y Yamanigüey que tiene los lobos del cáliz blanco amarillentos (Figura 6F). En el primer grupo pese a presentar menos contraste de colores en las flores, las dimensiones de los lobos del cáliz son mayores que en el segundo (Figura 5B). Estos resultados podrían sugerir que los polinizadores de estos grupos (si fuesen distintos) difieren en cuanto a la selección del contraste de colores y dimensiones de las flores. Con respecto al contraste de los colores es necesario tener en cuenta que las flores, por lo general, reflejan la luz ultravioleta y por lo tanto gran cantidad de polinizadores son atraídos por este color, el cual no es visible al ojo humano. En este caso para comprobar si en realidad existe un efecto diferencial entre la atracción de polinizadores por diferentes contrastes en las flores de las plantas de *P. orbicularis* de las diferentes localidades sería recomendable realizar estudios donde se impida la reflexión de la luz ultravioleta con métodos como el planteado por Johnson & Andersson (2002).

Debido a la presencia de un disco nectarífero en la base de los ovarios de las flores femeninas de *Phyllanthus*

*orbicularis* se podría inferir que estas flores son polinizadas por animales. Este tipo de polinización ha sido referenciado en otras especies del género (Kawakita & Kato 2004) y la presencia de estilos revolutos en los extremos de los estilos pudiera influir en el éxito de la polinización. En ambas especies los estilos son columnares, lo que en conjunto con la presencia de extremos revolutos puede facilitar el contacto de las regiones estigmáticas con los insectos que se alimenten del néctar. Igualmente, la presencia de estilos bífidios puede facilitar la polinización ya que aumenta el área de contacto con los polinizadores.

Aunque la configuración de los estilos de *Phyllanthus orbicularis* de las localidades es similar, existen diferencias entre ellos en relación con su longitud (Figura 5B). Los estilos de las flores de *P. orbicularis* de Cajalbana, Galindo, Los Caneyes y Ceja de Melones son más largos que los de La Cueva y Yamanigüey, lo cual pudiera estar relacionado con el tamaño del polinizador. Estilos de mayor tamaño pueden requerir de polinizadores de mayores dimensiones para que el contacto con las regiones estigmáticas sea más efectivo. Las implicaciones de las dimensiones florales en la polinización son similares a las referidas anteriormente respecto a las dimensiones de los estambres.

El ACP de la longitud del pedicelo, las dimensiones de las piezas del cáliz, dimensiones del ovario y dimensiones de los estilos de las flores femeninas analizados entre las plantas de *Phyllanthus orbicularis* de las diferentes localidades muestra cómo se separan las plantas de La Cueva y Yamanigüey de las de Cajalbana, Los Caneyes y Ceja de Melones (Figura 8). Sin embargo, también se refleja que las plantas de Ceja de Melones se distinguen del resto, ya que de forma general presentan estructuras de mayor tamaño, al igual que en las flores masculinas de esta región (Figura 5B), lo que coincide con lo encontrado por Webster (1956-1958).

Aunque las dimensiones de frutos y semillas son diferentes entre las plantas de *Phyllanthus orbicularis* de las localidades estudiadas (Figura 9), las mismas pudieran deberse a diferencias entre el grado de madurez de la estructura, por lo que estos resultados no son definitivos. Para validarlos sería necesario la realización de estudios fenológicos donde se utilice una muestra de mayor tamaño y en todas en su estado máximo de madurez, lo que permitirá realizar comparaciones efectivas.

## CONCLUSIONES

Las plantas de *Phyllanthus orbicularis* de La Cueva y Yamanigüey difieren de las de Cajalbana, Galindo, Los Caneyes y Ceja de Melones con respecto a: la longitud de las ramas floríferas; el número de hojas por rama

florífera; color, venación, forma, textura y margen de las hojas; la longitud del pedicelo; el color del cáliz, las dimensiones de sus piezas; la longitud de los filamentos de los estambres y de los estilos.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos al Jardín Botánico Nacional de la Universidad de La Habana, por la digitalización de las imágenes y el apoyo para la realización de los viajes de campo en conjunto con la Asociación de Amigos del Jardín y Museo Botánicos del Berlín-Dahlem ("Verein der Freunde des Botanischen Gartens und Botanischen Museums Berlin-Dahlem e.V."), el Centro Nacional de Áreas Protegidas, la Sociedad Cubana de Botánica y Planta! – Iniciativa para la conservación de la flora cubana. Al Departamento de Biología Vegetal de la Facultad de Biología de la Universidad de La Habana por permitir el uso del estereoscopio con cámara acoplada y de los laboratorios. A Majela Hernández por su asesoramiento en el análisis de morfometría geométrica y a José Angel García-Beltrán por la revisión inicial del manuscrito. Asimismo, se reconoce el excelente trabajo realizado por revisores anónimos y los editores de la Revista del Jardín Botánico Nacional, en especial a Rosalina Berazaín y Leneidy Pérez-Pelea.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso, A., Fuentes, J. L., Sánchez-Lamar, A. & Llagostera, M. 2010. Antimutagenic Effect of *Phyllanthus orbicularis* Against  $\gamma$ -Radiation. *Lat. Am. J. Pharm.* 29 (1): 148-52.
- Álvarez, A. & Del Barrio, G. 2008. Propiedades antivirales de 4 plantas del género *Phyllanthus*. *Revista Cub. Farm.* 42(1).
- Borhidi A. 1991. Phytogeography and Vegetation Ecology of Cuba. Akadémiai Kiadó. Budapest, Hungary.
- Butlin, R. K. 2012. What do we need to know about speciation? *Trends Ecol. Evol.* 27 (1): 27-39.
- Capote, R. P. & Berazaín, R. 1984): Clasificación de las Formaciones Vegetales de Cuba. *Revista Jard. Bot. Nac. Univ. Habana* 5(2): 27-75.
- Cuéllar Cuéllar, A. & Franco Estévez, [J.] P. (1980): Estudio fitoquímico preliminar de plantas cubanas V. *Phyllanthus niruri*, *Euphorbiaceae*. *Revista Cub. Farm.* 14: 63-68.
- Cutler, D. F., Botha, C. E. J. & Stevenson, D. W. 2007. Plant Anatomy. An Applied Approach. Blackwell Publishing, Oxford, UK.
- Del Barrio Alonso, G., Roque Quintero, A., Kourí Cardellá, V. & Morier Díaz, L. 2014. *Phyllanthus orbicularis* Kunth: una especie endémica cubana con potencial para la obtención de drogas antivirales. *An. Acad. Cienc. Cuba* 4(2).
- Dickison, W. C. 2000. Integrative Plant Anatomy. Academic Press. California, Estados Unidos.
- Faegri, K. & van der Pijl, L. 1979. The principles of pollination ecology. Pergamon Press.

- Ferrer, M., Sánchez-Lamar, A., Fuentes, J. L., Barbé, J. & Llagostera, M. 2001. Studies on the antimutagenesis of *Phyllanthus orbicularis*: mechanisms involved against aromatic amines. *Mutat. Res.* 498: 99-105.
- Freeman, H. 1974. Computer processing of line drawing images. *Comp. Surv.* 6: 57-97.
- Furuta, N., Ninomiya, S., Takahashi, S., Ohmori, H. & Ukai, Y. 1998. Quantitative evaluation of soybean (*Glycine max* L. Merr.) leaflet shape by principal component scores based on elliptic Fourier descriptor. *Breeding Sci.* 45: 315-320.
- Gómez, J. M., Bosch, J., Perfectti, F., Fernández, J. D., Abdelaziz, M. & Camacho, J. P. M. 2008. Spatial variation in selection on corolla shape in a generalist plant is promoted by the preference patterns of its local pollinators. *Proc. R. Soc. B.* 275: 2241-2249.
- Gutiérrez, Y. I. 2011. Estudio farmacognóstico de *Phyllanthus orbicularis* HBK, especie endémica de Cuba. Tesis de Doctorado. Universidad de La Habana.
- Greuter, W. & Rankin, R. 2017. Plantas Vasculares de Cuba. Inventario preliminar. Botanischer Garten & Botanisches Museum Berlin-Dahlem & Jardín Botánico Nacional, Universidad de La Habana. Berlín, Alemania & La Habana, Cuba.
- Hernández, M. 2014. Identificación de las subespecies de *Magnolia cubensis* (*Magnoliaceae*) mediante análisis digital de imágenes de las hojas. *Revista C. Cien. Biol.* 3 (2): 53-60
- Hickey, L. J. 1974. Clasificación de la arquitectura de las hojas en dicotiledóneas. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 16 (1-2): 1-25.
- Iturralde-Vinent, M. A. 2007. Sinopsis de la Geología de Cuba. En Iturralde-Vinent, M. A. (ed.). Geología de Cuba Para Todos. Museo Nacional de Historia Natural-CITMA. La Habana, Cuba.
- Iwata, H. & Ukai, Y. 2006. SHAPE: A Computer Program Package for Quantitative Evaluation of Biological Shapes Based on Elliptic Fourier Descriptors. *J. Hered.* 93(5): 384-385.
- Johnson, S. D. & Andersson, S. 2002. A simple field method for manipulating ultraviolet reflectance of flowers. *Can. J. Bot.* 80: 1325-1328.
- Joseph, B. & Raj, S. J. 2011. An Overview: Pharmacognostic Properties of *Phyllanthus amarus* Linn. *Int. J. Pharm.* 7 (1): 40-45.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.F. & Donoghue, M.J. 2016. Plant systematics: a phylogenetic approach. 4th Ed. Sinauer Associates. Sunderland, Estados Unidos.
- Kawakita, A. & Kato, M. 2004 Evolution of obligate pollination mutualism in New Caledonian *Phyllanthus* (*Euphorbiaceae*). *Am. J. Bot.* 91(3): 410-415.
- Kugler, H. 1943. Hummeln als Blütenbesucher. *Ergebn. biol.* 19: 143-323.
- Kuhl, F.P & Giardina, C. R. 1982. Elliptic Fourier features of a closed contour. *Comp. Graphics Image Processing.* 18: 236-258.
- Neustupa, J. & Stastny, J. 2006. The geometric morphometric study of Central European species of the genus *Micrasterias* (*Zygnematomyceae*, *Viridiplantae*). *Preslia.* 78: 253-263.
- Panfet Valdés, C., Rankin Rodríguez, R., Berazaín Iturralde, R. y Oviedo Prieto, R. 1986. Notas sobre la flora y vegetación de la zona de Yamanigüey, Moa, Provincia de Holguín. *Revista Jard. Bot. Nac. Univ. Habana* 7 (2): 79-96.
- Reeves, R. D., Baker, A. J. M., Borhidi, A. & Berazaín, R. 1999. Nickel Hyperaccumulation in the Serpentine Flora of Cuba. *Ann. Bot.* 83: 29-38.
- Rohlf, F. J. & Archie, J. W. 1984. A comparison of Fourier methods for the description of wing shape in mosquitoes (*Ritiera culicidae*). *Syst. Zool.* 33: 302-317.
- Shipunov, A. B. & Bateman, R. M. 2005. Geometric morphometrics as a tool for understanding *Dactylorhiza* (*Orchidaceae*) diversity in European Russia. *Bot. J. Linnean Soc.* 85: 1-12.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 1991. Plant Physiology. The Benjamin/Cummings Publishing, Inc. California. Estados Unidos.
- Webster, G. L. (1956-1958): A monographic study of the West Indian species of *Phyllanthus*. *J. Arnold Arbor.* 37: 91-122, 217-268, 340-359; 38: 51-80, 170-198, 295-373; 39: 49-100, 111-212.