

Caracterización anatómica foliar de cuatro especies cubanas del género *Tolumnia* (Orchidaceae)

Foliar anatomical characterization of four cuban species of the genus *Tolumnia* (Orchidaceae)

María Victoria Ortiz-Cruz^{1,*} & Alelí Morales Martínez²

RESUMEN

El género *Tolumnia* está formado por orquídeas exclusivas del Caribe insular, a excepción de una especie presente en Florida, Estados Unidos. Cuba cuenta con 10 especies, de las cuales seis son endémicas. Durante la presente investigación se estudiaron *Tolumnia guibertiana*, *T. lemoniana*, *T. sylvestris* y *T. variegata* a fin de caracterizar su anatomía foliar en función de los factores abióticos del medio donde habitan. Para ello se obtuvieron secciones transversales y la epidermis foliar de hojas maduras de cada una de las especies. Las variables evaluadas fueron el grosor de la cutícula, tipo de hoja según la distribución de los estomas, patrón estomático, disposición de los haces de fibras de esclerénquima, tipo de mesofilo y presencia de papilas. Todas las especies analizadas mostraron caracteres xerofíticos marcados en sus hojas, tales como: cutícula gruesa, hojas anfiestomáticas, estomas con cámara supraestomática, mesofilo homogéneo con engrosamientos espiralados en sus células y haces de fibras de esclerénquima subepidérmicos. Adicionalmente, *T. guibertiana* y *T. sylvestris* presentan papilas. Las características anatómicas foliares observadas en estas cuatro especies son el reflejo de los factores abióticos a los que están sometidas en su hábitat.

Palabras clave: hoja, estoma, cutícula, haces de fibras de esclerénquima, características xerofíticas, *Oncidiinae*

ABSTRACT

The genus *Tolumnia* is made up of exclusive orchids from the insular Caribbean, with the exception of one species present in Florida, USA. Cuba has 10 species, of which six are endemic. During the present investigation *Tolumnia guibertiana*, *T. lemoniana*, *T. sylvestris* and *T. variegata* were studied in order to characterize their leaf anatomy in function of the abiotic factors of the environment where they inhabit. For this, transversal sections and the leaf epidermis of mature leaves of each of the species were obtained. The variables evaluated were cuticle thickness, leaf type according to stomata distribution, stomatal pattern, sclerenchyma fiber bundle arrangement, mesophyll type and presence of papillae. All species analyzed showed xerophytic characters marked on their leaves, such as: thick cuticle, anfiestomatic leaves, stomas with supraestomatic chamber, homogeneous mesophyll with spiral thickenings in their cells and bundles of subepidermal sclerenchyma fibers. Additionally, *T. guibertiana* and *T. sylvestris* present papillae. The foliar anatomical features observed in these four species are a reflection of the abiotic factors to which they are subjected in their habitat.

Keywords: leaf, stoma, cuticle, bundles of sclerenchyma fibers, xerophytic characteristics, *Oncidiinae*

Recibido: junio 2018 **Aceptado:** septiembre 2018

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

INTRODUCCIÓN

La familia *Orchidaceae* es una de las más diversas entre las angiospermas, con 25 000 especies, lo cual es más que todas las especies de mamíferos, aves y reptiles (Givnish & al. 2015). Los representantes de esta familia se distribuyen en todos los continentes excepto en la Antártida, con mayor abundancia y riqueza de especies en los trópicos (Ackerman 2014). La amplia distribución de las orquídeas está dada por su enorme diversidad de hábitos: terrestres, litófitas, trepadoras, semiacuáticas y epífitas (Ackerman 2014). A su vez, esta gran diversidad de hábitos está determinada por su amplia diversidad de estructuras vegetativas, como por ejemplo raíces en los entrenudos en las trepadoras (Llamacho & Larramendi 2005), raíces gruesas, carnosas o tuberosas en las terrestres (Hágsater & al. 2005)

y hojas suculentas, velamen radicular y pseudobulbos en las epífitas (Llamacho & Larramendi 2005).

Orchidaceae se divide en cinco subfamilias: *Aspotsioideae*, *Cypripedioideae*, *Orchidoideae*, *Neottioideae* y *Epidendroideae*, esta última con aproximadamente 21 160 especies, lo cual representa el 76% del total de especies de la familia (Freudenstein & Chase 2015). Una de las subtribus más diversas de *Epidendroideae* es *Oncidiinae* (Freudenstein & Chase 2015), la cual exhibe una alta variabilidad en su morfología vegetativa y floral. Vegetativamente las especies de esta subtribu varían de plantas perennes con pseudobulbos de 1kg a plantas de pequeño tamaño con pseudobulbos altamente reducidos (Neubig & al. 2012).

A este último grupo se le denomina como “*twig epiphytes*” o epífitas de rama fina ya que a menudo crecen en ramas de menos de 2,5 cm de diámetro (Neubig & al. 2012). Las “*twig epiphytes*” al crecer en estos sitios están expuestas al viento, a una mayor radiación solar y a la escasez de

¹Estación Ecológica Sierra del Rosario, ECOVIDA, CITMA; Km 51, Las Terrazas, Candelaria, Artemisa, Cuba. ²Jardín Botánico Nacional, Universidad de la Habana, Carretera “El Rocio” km 3½, Calabazar, Boyeros, La Habana, Cuba. CP. 19230. *Autor para correspondencia (e-mail: mvortiz2697@gmail.com)

superficies húmedas de donde extraer agua. En busca de contrarrestar estas condiciones han desarrollado ciclos de vida cortos, modificaciones en las células del velamen, semillas alargadas con proyecciones en la testa, entre otras características (Chase 1987). El grupo hermano de las “*twig epiphytes*” dentro del árbol filogenético de *Oncidiinae* es el género *Tolumnia* Raf., la cual comparte muchas de las características de las “*twig epiphytes*”, salvo la presencia de un ciclo de vida más largo y que crecen sobre ramas más gruesas (Neubig & al. 2012). Uno de los casos más extremos que se observa en *Tolumnia* es *T. sylvestris* (Lindl.) Braem, que se encuentra como epífita al nivel del suelo sobre las acículas y ramas caídas de *Pinus* sp. (Llamacho & Larramendi 2005).

Tolumnia fue segregado de *Oncidium* por Braem (1986) y soportado con evidencia molecular como un grupo monofilético por Neubig & al. (2012). Cuenta con 25 especies distribuidas en el Caribe, excepto *T. bahamensis*, cuya distribución actual incluye los Everglades, Estados Unidos (Braem 1986, Ackerman 2014). Generalmente son plantas epífitas que poseen flores coloridas con un callo conspicuo en la base del labelo (Ackerman 2014). Cuba cuenta con 10 especies de *Tolumnia*, seis de las cuales son endémicas (Greuter & al. 2017). Las especies cubanas de *Tolumnia* habitan en llanuras costeras o interiores, colinas bajas y en menor medida en zonas montañosas (Llamacho & Larramendi 2005).

En el género *Tolumnia* se han realizado numerosos estudios referentes a su morfología, anatomía (Braem 1986, Otero & al. 2005 y Sandoval-Zapotitla & al. 2010), ecología (Sauleda & Adams 1989) y filogenia (Chase & al. 2009 y Neubig & al. 2012). En Cuba, las investigaciones sobre las especies del género se han centrado en su taxonomía (Grisebach 1866, Acuña 1939, León 1946, Braem 1986, Díaz 1988, Ackerman 2014) y su biología reproductiva (Vale & al. 2011). Sin embargo, en el país no se han realizado estudios de su anatomía, los cuales permiten analizar a los representantes de la familia *Orchidaceae* desde un punto de vista ecológico-evolutivo (Oliveira & Sajo 1999). Asimismo, estos resultados pudieran dilucidar las adaptaciones de las especies de *Tolumnia* a los diferentes factores abióticos a los que se hallan expuestas en su hábitat. Por lo anteriormente expuesto, el presente estudio se propone como objetivos caracterizar la anatomía foliar de cuatro especies cubanas de *Tolumnia* y analizar su relación con los factores abióticos del medio donde habitan.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio anatómico de *Tolumnia guibertiana* (A. Rich.) Braem, *T. lemoniana* (Lindl.) Braem, *T. sylvestris* (Lindl.) Braem y *T. variegata* (Sw.) Braem se realizó a partir de 20 ejemplares de herbario, cinco por especie, procedentes de los herbarios “Johannes Bisse” del Jardín Botánico

Nacional (HAJB) y “Onaney Muñiz” del Instituto de Ecología y Sistemática (HAC) (Anexo 1). Se tomaron fragmentos de la porción media de las hojas maduras para realizarles secciones transversales y obtener a partir del método químico la epidermis foliar según la metodología propuesta por Peña & Saralegui (1982) con algunas modificaciones. Para obtener las secciones transversales de las hojas, la deshidratación de los cortes se realizó en una serie alcohólica de 50, 70, 75 y 90% y la tinción de estos en una mezcla de safranina y alcohol al 90%. Para obtener la epidermis foliar se cambió la mezcla de agua y glicerina por hidróxido de potasio al 2%, los fragmentos de las hojas no se introdujeron en una mezcla de ácido crómico y ácido nítrico ambos al 10% y la tinción se realizó con safranina. Después de la tinción de las secciones transversales y la epidermis foliar se procedió a su montaje en gelatina glicerinada y al sellado con parafina.

Los caracteres anatómicos foliares fueron observados en un microscopio óptico Novel, modelo N-800M, con cámara digital acoplada, con el que se tomaron fotografías de estos mediante el software *ScopelImage 9.0*. Los caracteres analizados fueron: (1) Grosor de la cutícula. Se comparó el grosor de la cutícula con la altura de su correspondiente célula epidérmica; si el grosor de la cutícula fue menor que la mitad de la altura de su correspondiente célula epidérmica, la cutícula se clasificó como fina; si el grosor fue igual o mayor que la mitad, se clasificó como cutícula gruesa. (2) Tipo de hoja según la distribución de los estomas, a partir de la clasificación de Reyes-López & al. (2015). (3) Patrón estomático, según el criterio de Dilcher (1974). (4) Disposición de los haces de fibras de esclerénquima. (5) Presencia de papilas. (6) Tipo de mesofilo, según el criterio de Valla (2004).

RESULTADOS

En las hojas de *Tolumnia guibertiana*, *T. lemoniana*, *T. sylvestris* y *T. variegata* se observó una cutícula gruesa que recubre el estrato de células epidérmicas (Figura 1). De acuerdo con la distribución de los estomas en su superficie, las hojas son anfiestomáticas. El patrón estomático observado en estas especies fue el tetracítico (Figura 2A); sin embargo, *Tolumnia sylvestris* y *T. variegata* presentaron también estomas pentacíticos (Figura 2B). Además, en las cuatro especies los estomas están rodeados por cámaras supraestomáticas formadas por rebordes cuticulares externos (Figura 2C).

Los haces de fibras de esclerénquima subepidérmicos (HFES) se observaron en todas las especies analizadas. Sólo en *Tolumnia guibertiana* los HFES se disponen en ambas superficies foliares (Figura 3A), mientras en las restantes especies estas estructuras se presentan exclusivamente en la superficie abaxial. Únicamente en *T. sylvestris* y *T. guibertiana* se presentaron papilas,

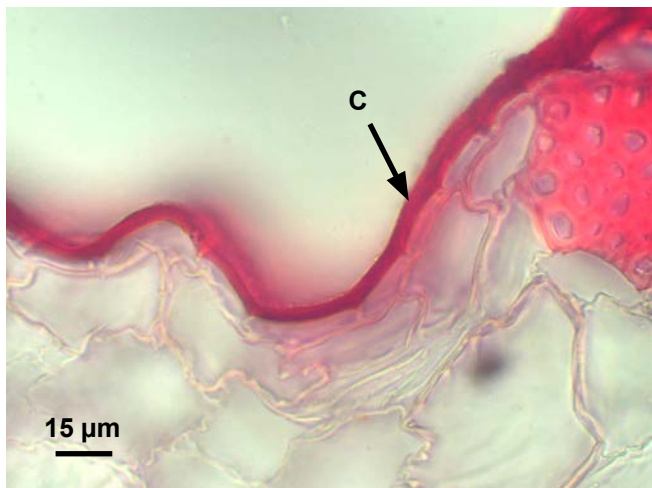


Fig. 1. Sección transversal de una porción de la epidermis de la hoja de *Tolumnia sylvestris*. C: Cutícula. Foto: M.V Ortiz.

Fig. 1. Transversal section of a leaf epidermis portion of *Tolumnia sylvestris*. C: Cuticle. Photo: M.V Ortiz.

una por célula epidérmica, las que se mostraron relacionadas con la disposición de los HFES, ya que sólo en las células epidérmicas que se encuentran por encima de los HFES se presentan papilas epidérmicas (Figura 3B). En vista paradérmica se observaron las hileras de papilas intercaladas con las hileras de estomas (Figura 3C).

El mesofilo en las cuatro especies estudiadas presentó una estructura homogénea (Figura 4A). Las células observadas son poliédricas, de paredes delgadas, tamaño variable y con engrosamientos espiralados en su pared (Figura 4B).

DISCUSIÓN

Las especies estudiadas crecen mayormente en matorral xeromorfo costero y subcostero (*Tolumnia guibertiana*), en los bosques semidecíduo mesófilos (*T. variegata*), siempreverde microfilos (*T. lemoniana*) y de pinos (*T. sylvestris*) (Ortiz-Cruz 2016); donde las características de la vegetación provocan un exceso de radiación solar y por ende un elevado déficit hídrico para las especies epífitas que en ellas habitan. Adicionalmente, estas especies comparten las características de las “*twig epiphytes*” de crecer en los extremos de las ramas de árboles y arbustos, lejos de la sombra del sotobosque, sitios que están expuestos al viento, a una mayor radiación solar y a la escasez de superficies húmedas de donde extraer agua. Por ello, la presencia de una cutícula gruesa les permite a estas plantas reducir la pérdida de agua por transpiración, y mejorar por tanto su economía hídrica, así como evitar daños mecánicos producidos por el viento. Según Dugarte-Corredor & Luque-Arias (2012), la presencia de una cutícula gruesa se ha interpretado como un mecanismo para el control de la transpiración, que además sirve de protección contra la luz intensa.

De este modo evita que los tejidos internos se calienten excesivamente y previene el colapso o marchitamiento de los tejidos de la hoja cuando hay pérdida de agua en exceso. Así, la cutícula gruesa presente en *Tolumnia guibertiana*, *T. lemoniana*, *T. sylvestris* y *T. variegata* podría constituir una adaptación que les permite la supervivencia en su hábitat.

Las hojas anfiestomáticas, es decir, que presentan estomas en ambas superficies foliares, caracterizan estas cuatro especies de *Tolumnia*. Ello podría ser una ventaja adaptativa para aumentar la tasa fotosintética que se encuentra limitada en las hojas expuestas a una alta radiación solar, según el criterio de Reyes-López & al. (2015). Por otra parte, la presencia de cámaras supraestomáticas podría permitir en estas especies la existencia de un compartimiento de aire húmedo que protege a los estomas, lo cual también reduciría la transpiración. Según Arévalo & al. (2011), esta estructura es común en orquídeas epífitas que enfrentan altas temperaturas y una escasa disponibilidad de agua, como es el caso de las especies analizadas en este estudio.

Los estomas tetracíticos encontrados en *Tolumnia guibertiana*, *T. lemoniana*, *T. sylvestris* y *T. variegata* coincide con lo referido por Stern & Carlswald (2006), quienes plantean que este es el tipo básico de estoma de la subtribu *Oncidiinae*. Además, la presencia de dos tipos básicos de estomas en las hojas de *Tolumnia sylvestris* y *T. variegata*, también fue referido por Cetzal-Ix & al. (2013) para las oncidíneas *Cohniella pendula* Carnevali & Cetzal y *Trichocentrum oerstedii* (Rchb. f.) R. Jiménez.

La presencia de una sola papila por célula epidérmica, como se observa en *Tolumnia guibertiana* y *T. sylvestris*, también ha sido referido para algunas especies del género *Brassavola* R.Br. (*Laelliinae*) por Noguera-Savelli & Jáuregui (2011). De acuerdo con Sandoval-Zapotitla & al. (2010), el número de papilas por células epidérmicas es un carácter útil para la clasificación de las especies dentro de *Oncidiinae*. Según Dugarte-Corredor & Luque-Arias (2012), las papilas en las orquídeas que viven en lugares sombríos favorecen la captación y aprovechamiento de la luz; dado que *Tolumnia guibertiana* y *T. sylvestris* viven en condiciones opuestas, es decir bajo un exceso de luz solar, la existencia de una sola papila por célula podría regular la cantidad de luz incidente, por lo que evitarían el calentamiento de los tejidos subyacentes y por tanto el daño de los estomas (Cetzal-Ix & al. 2013).

Los haces de fibras de esclerénquima subepidérmicos observados en las hojas de las especies analizadas de *Tolumnia* son un carácter común dentro de *Oncidiinae* y que apoya la monofilia del género (Sandoval-Zapotitla & al. 2010). Estas estructuras les confieren resistencia

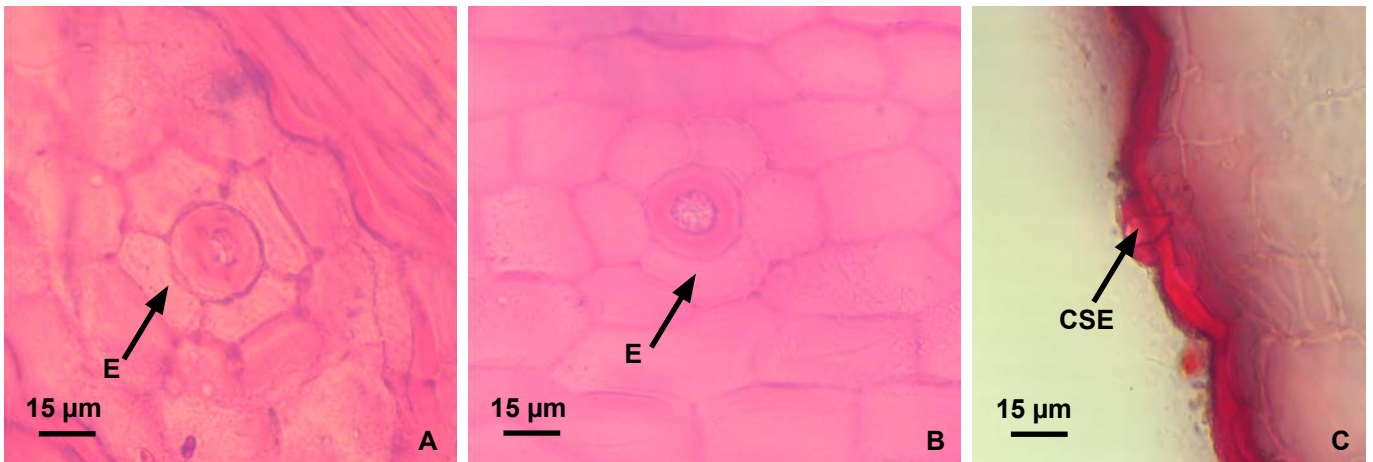


Fig. 2. Estomas en la epidermis de *Tolumnia sylvestris*. **A.** Estoma tetracíclico. **B.** Estoma pentacíclico. **C.** Cámara supraestomática. E: Estoma. CSE: Cámara supraestomática. Fotos: M.V Ortiz.

Fig. 2. Stomas in the *Tolumnia sylvestris* epidermis. **A.** Tetracytic stoma. **B.** Pentacytic stoma. **C.** Supraestomatic chamber. E: stoma. CSE: supraestomatic chamber. Photo: M.V Ortiz.

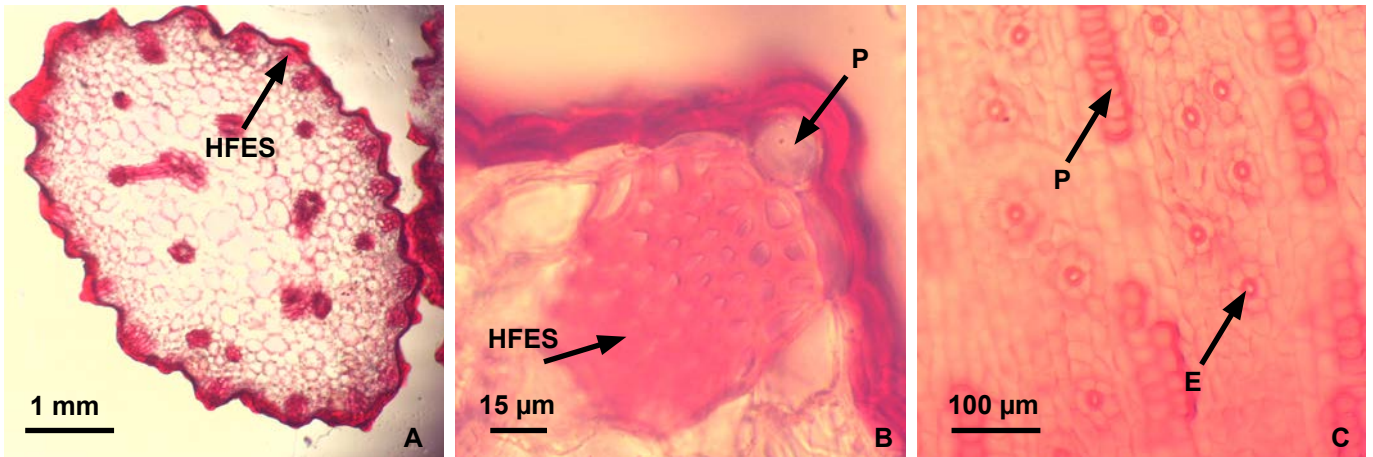


Fig. 3. Sección transversal de la lámina foliar (A y B) y epidermis foliar (C) de *Tolumnia guibertiana*. E: Estoma. HFES: Haces de fibras de esclerénquima subepidérmicos. P: Papila epidérmica. Fotos: M.V Ortiz.

Fig. 3. Transverse section of the leaf blade (A and B) and leaf epidermis (C) of *Tolumnia guibertiana*. E: Stoma. HFES: Bundles of sclerenchyma fibers subepidermal. P: Epidermal papillae. Fotos: M.V Ortiz.

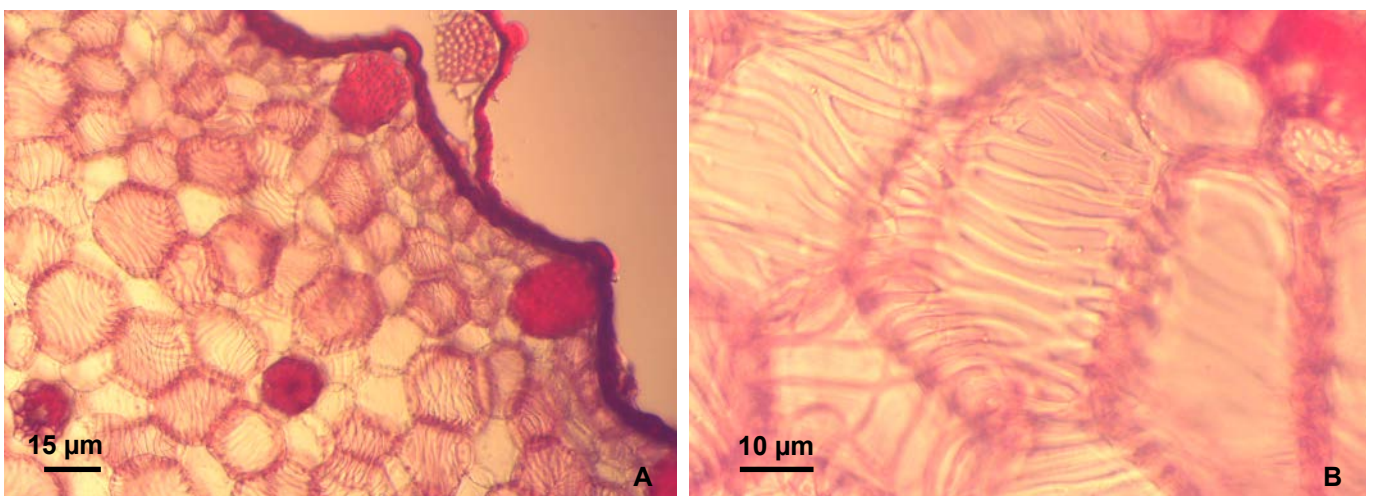


Fig. 4. Sección transversal de la hoja de *Tolumnia sylvestris*. **A.** Mesófilo homogéneo. **B.** Células del mesófilo. Fotos: M.V Ortiz.

Fig. 4. Traverse section of the leaf of *Tolumnia sylvestris*. **A.** Homogeneous mesophyll. **B.** Mesophyll cells. Photos: M.V Ortiz.

mecánica a las especies estudiadas en caso de deshidratación y les facilita soportar ambientes xerofíticos. La presencia en *T. guibertiana* de estas estructuras en ambas superficies foliares podría deberse a que esta habita fundamentalmente en el matorral xeromorfo costero y subcostero, una formación vegetal que está condicionada por la sequía climática (Borhidi 1991) y por un exceso de radiación solar propia de las costas. Adicionalmente, esta especie está sometida usualmente a las brisas marinas cargadas de sales que actúan como un factor secante adicional (Bisse 1988).

Tolumnia guibertiana, *T. lemoniana*, *T. sylvestris* y *T. variegata* presentan un mesofilo homogéneo, lo cual se corresponde con lo planteado por Sandoval-Zapotitla & al. (2010) para *T. variegata*. No obstante, ello contrasta con lo referido en el mismo estudio para *T. triquetra*, especie que posee un mesofilo diferenciado en parénquima en empalizada y esponjoso.

La presencia de engrosamientos espiralados en la pared de las células del mesofilo en las cuatro especies es una homoplasia que se presenta en el género *Tolumnia* y la subtribu *Zygopetalinae*, así como en *Pleurothallidinae* y *Brassavola* (Cetzal-Ix & al. 2013). Los engrosamientos espiralados podrían favorecer la supervivencia de estas plantas frente al déficit de agua propio de sus respectivos medios naturales, ya que según Oliveira & Sajo (1999) estas estructuras favorecen el almacenamiento de agua y evitan el colapso de los tejidos de la hoja en época de sequía.

CONCLUSIONES

El análisis de la anatomía foliar de *Tolumnia guibertiana*, *T. lemoniana*, *T. sylvestris* y *T. variegata* muestra caracteres que podrían constituir adaptaciones al déficit de agua y al exceso de radiación solar a las que se encuentran sometidas en las formaciones vegetales donde habitan. Desde el punto de vista anatómico foliar, aún resta por estudiar varias especies del género en Cuba y el Caribe, lo cual aportará mayor información sobre las adaptaciones que han desarrollado las especies de este género en su hábitat.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos a Hildelisa Saralegui, Cristina Panfet, Julio Cesar Montes de Oca y Rosalina Berazaín por sus acertados comentarios durante la realización de esta investigación. A Carmen González y Marian Álvarez, por ayuda durante la búsqueda de información en la Biblioteca del Jardín Botánico Nacional. A los revisores anónimos y los editores de la Revista del Jardín Botánico Nacional, en especial a Banessa Falcón Hidalgo y José Angel García-Beltrán, por sus correcciones y sugerencias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ackerman, J. 2014. Flora of the Greater Antilles. The New York Botanical Garden Press. USA.
- Acuña, J. 1939. Catálogo Descriptivo de las Orquídeas Cubanas. *Bol. Estación Centr. Agron. Cuba* 60.
- Arévalo, R., Figueroa, J. & Madriñán, S. 2011. Anatomía foliar de ocho especies de orquídeas epifitas. *Lankesteriana* 11: 39-54.
- Bisse, J. 1988. Árboles de Cuba. Editorial Científico Técnica. La Habana. Cuba.
- Borhidi, A. 1991. Phytogeography and vegetation ecology of Cuba. Akadémiai Kiado. Budapest, Hungría.
- Braem, G J. 1986. The taxonomy of plants formerly referred to *Oncidium* section *Oncidium* (Orchidaceae) in the Caribbean islands. University of New Castle. New Castle, Australia.
- Cetzal-Ix, W., Noguera-Savelli, E., Jáuregui, D. & Carnevali, G. 2013. Anatomía foliar comparada y sistemática del clado *Trichocentrum* con énfasis en *Cohniella* (Asparagales: Orchidaceae). *Revista Biol. Trop.* 61: 1841-1858.
- Chase, M., Williams, N., Faria, A., Neubig, K., Amaral, M. & Whitten, M. 2009. Floral convergence in *Oncidiinae* (Cymbidieae; Orchidaceae): an expanded concept of *Gomesa* and a new genus *Nohawilliamsia*. *Ann. Bot. Mem.* 104: 387-402
- Chase, W. 1987. Obligate twig epiphytism in the *Oncidiinae* and other Neotropical orchids. *Selbyana* 10: 24-34.
- Díaz, M. A. 1988. Las orquídeas nativas de Cuba. Editorial Científico Técnica. La Habana, Cuba.
- Dilcher, D. L. 1974. Approaches to the identification of angiosperm leaf remains. *Bot. Rev.* 40: 1-157.
- Dugarte-Corredor, B. & Luque-Arias, R. 2012. Morfoanatomía en *Cranichideae* (Orchidaceae) de la Estación Loma Redonda del Parque Nacional "Sierra Nevada", Mérida, Venezuela. *Lankesteriana* 12(1): 61-75.
- Freudenstein, J. & Chase, M. 2015. Phylogenetic relationships in *Epidendroideae* (Orchidaceae), one of the great flowering plant radiations: progressive specialization and diversification. *Ann. Bot. Mem.* 115: 665-681.
- Givnish, T. J., Spalink, D., Ames, M., Lyon, S. P., Hunter, S. J., Zuluaga, A., Iles, W., Clements, M. A., Arroyo, M. T. K., Leebens-Mack, J., Endara, L., Kriebel, R., Neubig, K. M., Mark Whitten W., Cameron, K. M., & Williams, N. H. 2015. Orchid phylogenomics and multiple drivers of their extraordinary diversification. *Proc. R. Soc. B.* 282: 1-10. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2015.1553>
- Greuter, W., Rankin, R. & Morales, A. 2017. *Orchidaceae*. Pp. 260-261. En: Greuter, W. & Rankin, R. 2017. Plantas Vasculares de Cuba Inventario preliminar. Segunda edición, actualizada, de Espermatófitos de Cuba con inclusión de los Pteridófitos. Botanischer Garten & Botanisches Museum Berlin-Dahlem & Jardín Botánico Nacional, Universidad de La Habana. Berlín, Alemania & La Habana, Cuba. DOI: <http://dx.doi.org/10.3372/cubalist.2017.1>
- Grisebach, A. 1866. *Catalogus plantarum cubensium exhibens collectionem Wrightianam aliasque minores ex insula Cuba missas*. Engelmann, Lipsiae.

- Hágsater, E., Soto Arenas, M., Salazar Chávez, G., Jiménez, R., López Rosas, M. A. & Dressler, R. 2005. Las orquídeas de México. Instituto de Biología, Universidad Autónoma de México. México.
- León. 1946. Flora de Cuba I. Gimnospermas. Monocotiledóneas. *Contr. Ocas. Mus. Hist. Nat. Colegio "De La Salle"* 8.
- Llamacho, J. A. & Larramendi, J. A. 2005. Las orquídeas de Cuba. Greta Editores. Sevilla, España: 287.
- Neubig, K., Whitten, W. M., Williams, W. N., Blanco, M., Endara, L., Burleigh, J. G., Silvera, K., Cushman, J. & Chase, M. 2012. Generic recircumscriptions of *Oncidiinae* (*Orchidaceae*: *Cymbidieae*) based on maximum likelihood analysis of combined DNA datasets. *Bot. J. Linn. Soc.* 168: 117-146.
- Noguera-Savelli, E. & Jáuregui, D. 2011. Anatomía foliar comparada y relaciones filogenéticas de 11 especies de *Laeliinae* con énfasis en *Brassavola* (*Orchidaceae*). *Rev. Biol. Trop.* 59: 1047-1059.
- Oliveira, V. & Sajo, M. 1999. Anatomía foliar de especies epífitas de *Orchidaceae*. *Revista Brasil. Pl. Med.* 22: 365-374.
- Ortiz-Cruz, M.V. 2016. Caracterización morfo-anatómica foliar del género *Tolumnia* (*Orchidaceae*) en Cuba. Tesis de Diploma. Jardín Botánico Nacional, Universidad de La Habana.
- Otero, T., Bayman, P. & Ackerman, J. 2005. Variation in mycorrhizal performance in the epiphytic orchid *Tolumnia variegata* in vitro: the potential for natural selection. *Evol. Ecol.* 19: 29-43.
- Peña, E. & Saralegui, H. 1982. Técnicas de Anatomía Vegetal. Universidad de La Habana. La Habana, Cuba.
- Reyes-López, D., Quiroz-Valentín, J., Kelso-Bucio, H. A., Huerta-Lara, M. & Lobato-Ortiz, R. 2015. Caracterización estomática de cinco especies del género *Vanilla*. *Agron. Mesoam.* 26: 237-246.
- Sandoval-Zapotitla, E., García-Cruz, J., Terrazas, T. & Villaseñor, J. L. 2010. Relaciones filogenéticas de la subtribu *Oncidiinae* (*Orchidaceae*) inferidas a partir de caracteres estructurales y secuencias de ADN (ITS y matk): un enfoque combinado. *Revista Mex. Biodivers.* 81: 263-279.
- Sauleda, R. & Adams, R. 1989. The orchid genera *Oncidium* Sw. and *Tolumnia* Raf. in Florida. *Rhodora.* 91: 188-200.
- Stern, W. L. & Carlswald, B. S. 2006. Comparative vegetative anatomy and systematics of the *Oncidiinae* (*Maxillarieae*, *Orchidaceae*). *Bot. J. Linn. Soc.* 152: 91-107.
- Tari, I. 2003. Densidad estomática abaxial y adaxial, conductancias estomáticas y estatus del agua en las primeras hojas de frijol como es afectado por paclobutrazol. *Biol. Plant.* 47:215-220.
- Vale, A., Navarro, L., Rojas, D. & Álvarez, J.C. 2011. Breeding system and pollination by mimicry of the orchid *Tolumnia guibertiana* in Western Cuba. *Pl. Spec. Biol.* 26: 163-173.
- Valla, J. J. 2004. Botánica. Morfología de las plantas superiores. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina.

ANEXO

Anexo 1. Materiales utilizados en el presente estudio anatómico-foliar.

Annex 1. Materials used in the present vegetative-anatomical studies.

***Tolumnia lemoniana*:** Cuba: Holguín: Rafael Freire: Loma del Naranjo al este sobre la bahía de Naranjo, 17.X.1978, Bisse J. & al. HFC 38187 (HAJB). Granma: Pilon: camino del Hondón a la costa, 24.X.1977. Bisse J. & al. HFC 35452 (HAJB). Playa Punta Hicaco (cultivado en orquideario de Soroa), 19.VII.1984, Hernández A, & al. HFC 55243 (HAJB). Guantánamo: Maisí: El Diamante, terraza costera inferior entre el Corajo y río Ovando, 5.VI.1982, Bisse J. & al. HFC 47853 (HAJB). Jauco: Loma de Prada, 0-200 msm, 5.V.1982, Bisse J. & al. HFC 47676, (HAJB).

***Tolumnia sylvestris*:** Cuba: Holguín: Moa: Monte la Breña, 16.IV.1946, Hno. Clemente LS 04975a (HAC). Santiago de Cuba: Sierra Maestra: Farallón de la cueva del Aura, 31.VII.1935, J. Acuña SV 09533 (HAC). Segundo Frente: Pinares de Mícará, 25.IV.1985, Álvarez A. & al. HFC 56851 (HAJB). Pinares en el camino entre los Jagüeyes y El Halcón, 23.IV.1985, Dietrich H. & Lepper L. HFC 56476 (HAJB). Guantánamo: Palenque: Cuchillas del Toa: Cayo Fortuna: Farallones en la orilla del río Toa, 8.IV.1972, Bisse J. & Berzaín R. HFC 22390 (HAJB).

***Tolumnia guibertiana*:** Cuba: Pinar del Río: Mantua: Playa Las Canas, manigua al sur de los manglares, 29.III.1982, Bisse J. & al. HFC 46588 (HAJB). Camagüey: Minas: cuabal al sur de la carretera Minas - Alta Gracia, 100 msm, 27.IV.1984, Gutiérrez J. & al. HFC 54169 (HAJB). Florida: Caobilla, La Ciega, 23-25.VI.1927, Acuña J. SV 38673 (HAC). Santiago de Cuba: Segundo Frente: charrascos entre los Güiros y el Oro, 18.IV.1984, Dietrich H. & al. HFC 56165 (HAJB). Santiago de Cuba: Renté, 1944, Hno. Clemente LS 10544 (HAC).

***Tolumnia variegata*:** Cuba: Camagüey: Sabanas del Norte, 6.VI.1953, Acuña J. & Conrrell SV 18695 (HAC). Santiago de Cuba: Santiago de Cuba: Renté, 1944, Hno. Clemente LS 22462 (HAC). Guantánamo: Yateras: Felicidad de Yateras, camino de Guayabal a Monte Cristo, 800 msm, 10.V.1983, Bisse J. & al. HFC 49118 (HAJB). Guantánamo: Yateras: Sierra de Frijol, en el camino del Riíto a Cayo Fortuna, 12.V.1983, Bisse J. & al. HFC 49294 (HAJB). Holguín: Mayarí: Sierra de Nipe, orillas de las cabezadas del río Piloto, 30.X.1977, Bisse J. & al. HFC 35749 (HAJB).