

## Estudio palinológico de algunas especies del género *Stenostomum* C.F. Gaerth (Guettardeae: Rubiaceae) en Cuba\*

Lázara SOTOLONGO MOLINA \*\* y Maira FERNÁNDEZ ZEQUEIRA\*\*

**ABSTRACT.** Pollen grains of eight species of the genus *Stenostomum* C.F. Gaerth (Guettardeae: Rubiaceae) were studied using light and scanning electron microscopy. These *taxa* are characterized by small to medium grain sizes, with two types: reticulate and perforate. Based on these morphological characters pollinic types and subtypes can be differentiated. A key for *taxa* which allows close determination using palynological methods was made.

**KEY WORDS.** *Stenostomum*, Rubiaceae, pollen, morphology, Cuban.

### INTRODUCCIÓN

El género *Stenostomum* C.F. Gaerth. no se encontraba reportado para Cuba, sólo fue citado como sinonimia de algunos *taxa* de *Antirhea* Comm. con 17 especies para nuestro país (Alain, 1964). En los últimos años la taxonomía de *Stenostomum* ha sido muy discutida por diferentes autores como Shu-Miaw y Darwin (1992) quienes realizaron una revisión del grupo y proponen la reconsideración del mismo para las especies del nuevo mundo. Posteriormente, Borhidi y Fernández (1994) confirman lo planteado por los autores anteriores revalidando *Stenostomum* para Cuba.

La morfología polínica de algunos *taxa* del género ha sido estudiada por autores como: Roubik y Moreno (1991) que realizaron el análisis polínico de *Antirhea trichantha* (Griseb.)

Hemsl. y describieron el polen como tectado, tricolporado, superficie cubierta de gránulos, colpos con una constricción en la región ecuatorial y poros alargados; Palacios-Chávez *et al.* (1991) describen el polen de *Antirhea lucida* (Swartz.) Benth. & Hook. con granos de polen de exina semitectada, perreticulada, retículo heterobrocado, tricolporados, los colpos delgados y Borhidi y Fernández (1994) en su artículo hacen alusión a las características morfológicas del grano de polen, basados en referencias bibliográficas anteriores.

El objetivo del presente trabajo es conocer las características morfológicas del polen de estos *taxa*, que en su mayoría constituyen endemismos y corroborar si la palinología difiere de los resultados obtenidos en este aspecto para *Antirhea*; siendo esta la primera investigación palinológica del género *Stenostomum* para Cuba.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron ocho *taxa* del género *Stenostomum*, procedentes del Herbario (HAC), del Instituto de Ecología y Sistemática.

El estudio al microscopio óptico (M.O) se realizó con un Olympus BH-2, sobre preparaciones acetolizadas y montadas en láminas permanentes con glicerogelatina, según la técnica de Erdtman (1954, 1969) y Nilsson y Praglowski (1992). Estas láminas fueron depositadas en la palinoteca del Instituto de Ecología y Sistemática (IES) y en el laboratorio de palinología del Museo de Historia Natural de Estocolmo, Suecia.

Para determinar la forma y tamaño del grano de polen, se realizaron 25 mediciones del diámetro de los ejes polar (P) y ecuatorial (E), en cada uno de los *taxa*, al menos de tres láminas, a un aumento de x 400. Las fotografías al M.O se tomaron en un microscopio Leitz Laborlux a un aumento x 1000.

Se seleccionaron cinco *taxa* representativos para su estudio al microscopio electrónico de barrido (MEB) Jeol JSM 25 S-II, con el fin de definir ornamentación y ectoaberturas las cuales al M.O no se podían definir. Las observaciones de la estratificación de la exina y las endoaberturas al MEB, se hicieron en tres *taxa*, con el uso de técnicas novedosas de congelación y corte del grano (Muller, 1973) en micrótomos de congelación Balzers SCD 020.

La terminología adoptada es básicamente la de Punt *et al.* (1994) y Vezey y Skavarla (1994).

Basados en la morfología del grano de polen se confeccionó una clave dicotómica, para las especies tratadas del género.

**Materiales investigados.** *Stenostomum abbreviatum* (Urb.) Borhidi y Fernández. (endemismo): Playa La Vaca, Moa, Oriente. Cuba. No. 1364. Fecha. 10/1974. Col. Borhidi. *Stenostomum apiculatum* Britt. y Standl. (endemismo): Márgenes del Río Peladero, Alto de la Valenzuela, Sierra Maestra, Oriente. Cuba. No. 6093 LS Fecha. 12/08/1955. Col. López Figueiras. *Stenostomum lucidum* (Sw.) C. F. Gaertn.: Sardinero, Santiago de Cuba, Oriente. Cuba. No.2913 LS. Fecha. 06/1948. Col. Hnos. Clemente y Crisógono. *Stenostomum mucronatum* (Urb.) Borhidi y Fernández (endemismo): Sierra Saca la Lengua, Cristal, Oriente. Cuba. No. 19791 SV. Fecha. 26 -27/05/1955. Col. Acuña y Zayas. *Stenostomum multinerve* (Urb.) Borhidi y Fernández (endemismo): Camino nuevo de las Minas de Cayaguán, Holguín. Cuba. No.6795 LS. Fecha.07/1949. Col. Hnos. Clemente, Alain y Crisógono. *Stenostomum ophiticola* (Alain) Borhidi y Fernández (endemismo): Sierra Saca la Lengua, Cristal, Oriente. Cuba. No. 19806 SV. Fecha. 05/1955. Col. Acuña. *Stenostomum shaferi* (Urb.) Borhidi y Fernández (endemismo): Carretera de la Mina Cromita, Cayaguán, Santiago de Cuba, Cuba. No.4076 LS. Fecha. 24/1944. Col. Hnos. Clemente, Alain y Crisógono. *Stenostomum urbanianum* (C.T. White) Borhidi y Fernández (endemismo): Paredón del Mono, Sta. Cruz de los Pinos. Cuba. No. 6248. Fecha. 04/1957. Col. Alain.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Descripción de los granos de polen.** *S. abbreviatum*: Grano de polen pequeño a mediano 17-27 x 19-25 µm de diámetro en vista ecuatorial. Oblato-esferoidal a prolato-esferoidal. Ambito circular a cuadrangular; tricolporado, raramente tetracolporado, ectoabertura colpos cortos, endoabertura os circular. Exina tectada 1,2 -2,0 µm de grosor, nexina en su interior con gránulos en el área de la abertura; tecto perforado, perforaciones 0,1-0,7 µm de diámetro. Fig. 1 (a y b).

\*Manuscrito aprobado en Octubre del 2000.

\*\*Instituto de Ecología y Sistemática, A.P. 8029, C.P. 10800, La Habana, Cuba.

*S. apiculatum*. Grano de polen pequeño a mediano 24-27 x 28-34  $\mu\text{m}$  de diámetro en vista ecuatorial. Suboblato a oblato-esferoidal. Ambito circular. Tricolporado, ectoabertura colpos cortos, endoabertura os con costa cubierta de gránulos. Exina semitectada 2,5-3,4  $\mu\text{m}$  de grosor; nexina en su interior cubierta de gránulos; tecto reticulado, retículo heterobrocado; lúmenes 1,0-2,9  $\mu\text{m}$  de diámetro; muros 0,6-0,9  $\mu\text{m}$  de grosor, simplicolumelado, columelas 0,4-0,8  $\mu\text{m}$  de diámetro. Fig. 1(c-e).

*S. lucidum*. Grano de polen pequeño 18-21 x 21-24  $\mu\text{m}$  de diámetro en vista ecuatorial. Suboblato a oblato-esferoidal. Ambito circular. Tricolporado, ectoabertura colpos cortos, endoabertura os circular con costa cubierta de gránulos. Exina semitectada 2,0-3,2  $\mu\text{m}$  de grosor; nexina en su interior cubierta de gránulos; tecto reticulado, retículo heterobrocado; lúmenes 0,3-2,1  $\mu\text{m}$  de diámetro; muros 0,5-0,7  $\mu\text{m}$  de grosor, simplicolumelado, columelas hasta 0,5  $\mu\text{m}$  de diámetro. Fig. 1 f.

*S. mucronatum*. Grano de polen pequeño 17-20 x 20-23  $\mu\text{m}$  de diámetro en vista ecuatorial. Suboblato a oblato-esferoidales. Ambito circular. Tricolporado, ectoabertura colpos largos, endoabertura os circular. Exina tectada hasta 2,0  $\mu\text{m}$  de grosor; tecto perforado, perforaciones menores 1  $\mu\text{m}$  de diámetro.

*S. multinerve*. Grano de polen pequeño 17-19 x 19-22  $\mu\text{m}$  de diámetro en vista ecuatorial. Suboblato a oblato-esferoidales. Ambito circular. Tricolporado, ectoabertura os circular, endoabertura colpos cortos. Exina semitectada 2,0-3,4  $\mu\text{m}$  de grosor; nexina en su interior cubierta de gránulos; tecto reticulado, retículo heterobrocado; lúmenes 0,6-1,5  $\mu\text{m}$  de diámetro; muros 0,4-0,5  $\mu\text{m}$  de grosor, simplicolumelado, con procesos supratactales. Fig. 2 (a-c).

*S. ophiticola*. Grano de polen pequeño 15-19 x 17-23  $\mu\text{m}$  de diámetro en vista ecuatorial. Suboblato. Ambito circular. Tricolporado, ectoabertura colpos cortos, endoabertura os circular. Exina semitectada 2,0  $\mu\text{m}$  de grosor; tecto reticulado, retículo heterobrocado; lúmenes 0,7-1,5  $\mu\text{m}$  de diámetro; muros 0,5  $\mu\text{m}$  de grosor, simplicolumelado.

*S. shaferi*. Grano de polen mediano 23-25 x 25-27  $\mu\text{m}$  de diámetro en vista ecuatorial. Oblato-esferoidal a esféricas. Ambito circular a cuadrangular. Tricolporados, frecuentemente tetracolporado, ectoabertura colpos cortos, endoabertura os circular. Exina semitectada 3,0  $\mu\text{m}$  de grosor; tecto reticulado, retículo heterobrocado; lúmenes 1,2-5,9  $\mu\text{m}$  de diámetro, con báculas en su interior; muros 0,9-1,2  $\mu\text{m}$  de grosor, simplicolumelado. Fig. 2 (d y e).

*S. urbanianum*. Grano de polen mediano 24-31  $\mu\text{m}$  de diámetro en vista ecuatorial, apolar. Esferoidales. Ambito circular. Tricolporado, ectoabertura colpos cortos, endoabertura os circular poco visible por la ornamentación. Exina semitectada 2,6-3,6  $\mu\text{m}$  de grosor; tecto reticulado, retículo heterobrocado; lúmenes 1,6-4,0  $\mu\text{m}$  de diámetro; muros 0,8-1,2  $\mu\text{m}$  de grosor, simplicolumelado, columelas 0,5-1,1  $\mu\text{m}$  de diámetro.

Las características morfológicas del polen en los *taxa* estudiados nos permitieron agrupar las especies en dos tipos y cinco subtipos polínicos (Tabla 1), al presentar diferencias en la ornamentación del tecto: semitectada-reticulada y tectada-perforada. Las aberturas pueden ser tricolporada, raramente tetracolporada, en algunas especies, se observan marcadas diferencias en el colporo.

Shu-Miaw y Darwin (1992) describen el polen del género como tricolporado y sugieren la restricción y reconsideración del mismo, para las especies representadas en el Nuevo Mundo, tomando en consideración otras diferencias taxonómicas y morfológicas, a partir de que la mayoría de las especies de *Stenostomum* pasaran a la sinonimia de *Antirhea*. El resultado del estudio sistemático que realizaron demuestra que todos los *taxa* que pertenecen al género *Antirhea* presentan polen semitectado, inaberturado, raramente uno porado y se encuentran en localidades del Viejo Mundo. Como se señaló, estos autores caracterizan el polen de *Stenostomum* como tricolporado, lo que difiere de nuestros resultados, al comprobar que la abertura es tricolporada, sin embargo la descripción de la morfología polínica coincide y apoya la reconsideración que proponen para el mismo, porque los granos de polen de los géneros que se discuten difieren en cuanto a los caracteres palinológicos más importantes; teniendo en cuenta que *Antirhea* tiene polen inaberturado raramente uno porado, con ornamentación reticulada y *Stenostomum* es tricolporado, raramente tetracolporado, con la ornamentación de dos tipos: semitectada-reticulada y tectada-perforada.

Borhidi y Fernández (1994) caracterizan el polen de este género como tricolporado, tectado, puntitegilado, basados en referencias bibliográficas; lo que coincide con los resultados de este trabajo para uno de los tipos polínicos; además se observó el tipo semitectado, reticulado, en otras muestras examinadas.

Estas diferencias encontradas en la ornamentación del tecto, las aberturas, así como en el grosor de la exina y diámetro del retículo, posibilitó proponer la siguiente clave para diferenciar las especies estudiadas.

#### Clave para las especies.

1. polen con exina semitectada, reticulada .....2
2. tricolporado, frecuente tetracolporado .....*S. shaferi*
- 2'. tricolporado, no tetracolporado .....3
3. endoabertura colpo corto ..... *S. multinerve*
- 3'. endoabertura os circular.....4
4. exina hasta 2,0  $\mu\text{m}$  de grosor.....*S. ophiticola*
- 4'. exina mayor de 2,0  $\mu\text{m}$  de grosor.....5
5. exina 2,0- 3,2  $\mu\text{m}$  de grosor, lúmenes menores de 2,1  $\mu\text{m}$  de grosor.....*S. lucidum*
- 5'. exina 2,5-3,4  $\mu\text{m}$  de grosor, lúmenes hasta 2,9  $\mu\text{m}$  de grosor.....*S. apiculatum*
- 5''. exina 2,6-3,6  $\mu\text{m}$  de grosor, lúmenes varían de tamaño hasta 4,0  $\mu\text{m}$  de grosor.....*S. urbanianum*
- 1'. polen con exina tectada, perforada.....6
6. tricolporado, raramente tetracolporado, colpos cortos.....*S. abbreviatum*
- 6'. tricolporado, no tetracolporado, colpos largos.....*S. mucronatum*

Walker (1974) en sus estudios polínicos referentes al tecto determinó una secuencia evolutiva: polen tectado / imperforado ----> polen tectado / perforado ----> polen semitectado ----> polen intactado; por lo que para las especies analizadas en esta investigación se cumple la secuencia de polen tectado / perforado a polen semitectado / reticulado, la que no asumimos con certeza para todo el grupo. Al comparar los resultados palinológicos con el tipo de inflorescencia y formación vegetal (Tabla 2), se observa una tendencia a la reducción del número y tamaño de las piezas florales, en el tipo tectado / perforado, lo cual puede explicarse al tener en cuenta que estas especies crecen en formaciones vegetales que presentan condiciones ecológicas extremas que contribuyen a que las plantas exhiban caracteres xerofíticos, de microfilia y micrancia que se desarrolla o acentúa en los charrascales, mientras que el tipo semitectado / reticulado presenta tendencia a incrementar el número de piezas florales y el número de flores en la inflorescencia, ya que son grupos que poseen mayor plasticidad ecológica, son menos exigentes y crecen en distintos ecótopos y formaciones vegetales como bosques, charrascales y costa sobre rocas calcáreas.

### CONCLUSIONES

- ◆ Los *taxa* estudiados presentan variabilidad en los caracteres morfológicos del grano de polen, lo que pudiera contribuir a esclarecer la posición taxonómica del grupo.
- ◆ La clave permite diferenciar las especies investigadas, con el uso del microscopio óptico.
- ◆ Las características del tipo de abertura nos permitió separar las especies.

**Agradecimientos.** A los Dr. Siwert Nilsson, Dr. Gamal El-Ghazaly, por sus acertadas sugerencias y atención, a todo el colectivo del Laboratorio de Palinología del Museo de Historia Natural de Estocolmo, Suecia; así como al Instituto Sueco por facilitar los fondos que nos permitieron la estancia en dicho laboratorio y facilidades para el uso del microscopio electrónico de barrido.

Tabla 1. Tipos y subtipos polínicos de las especies estudiadas.

Tipos polínicos	Subtipos polínicos	Características de la abertura	Especies
1. Exina semitectada – reticulada	Subtipo I	Tricolporado, raramente tetracolporado.	<i>S. shaferi</i>
	Subtipo II	Tricolporado, endoabertura colpos cortos, ectoabertura os circular.	<i>S. multinerve</i>
	Subtipo III	Tricolporado, endoabertura, os circular, ectoabertura colpada.	<i>S. ophiticola</i> , <i>S. lucidum</i> , <i>S. apiculatum</i> , <i>S. urbanianum</i> .
2. Exina tectada – perforada	Subtipo IV	Tricolporado, raramente tetracolporado, colpos cortos.	<i>S. abbreviatum</i> .
	Subtipo V	Tricolporado, colpos largos.	<i>S. mucronatum</i>

Tabla 2. Características de la inflorescencia, hábitat y distribución de los *taxa* estudiados. Cuba oriental (C. orit.)

Especies	Endemismo	Distribución	Inflorescencia	Ecótopo y Formación vegetal
<i>S. abbreviatum</i>	X	C. orit. (norte)	2 flores, pequeñas	Charrascos y bosques
<i>S. apiculatum</i>	X	C. orit. (sur)	10-12 flores, pequeñas	Bosques
<i>S. lucidum</i>	-	Toda Cuba	Pequeñas	Costas y rocas calcáreas
<i>S. mucronatum</i>	X	C. orit. (norte)	Solitaria, pequeña	Charrascos
<i>S. multinerve</i>	X	C. orit. (norte)	8-9 flores, axilares	Bosques
<i>S. ophiticola</i>	X	C. orit. (sur)	Pauciflora, pequeñas	Charrascos
<i>S. shaferi</i>	X	C. orit. (norte)	6-9 flores, pequeñas	Bosques y charrascos
<i>S. urbanianum</i>	X	Toda Cuba	10 flores, pequeñas	Bosques

### REFERENCIAS

- Alain, Hno. 1964. *Flora de Cuba*. Tomo V. Asoc. Est. Cienc. Biol. Public., La Habana, 363 pp.
- Borhidi, A. y M. Fernández Z. 1994. The genus *Stenotomum* C. F. Gaertn. (Rubiaceae) or the reconsideration of the New World *Anthirhea* species. *Acta Bot. Hung.* 38: (1-4) 157-165.
- Erdtman, G. 1954. *An Introduction to pollen Analysis*. The Ronald press Company. New York 239 pp.
- 1969. *Handbook of Palynology Morphology-Taxonomy -Ecology. An introduction to the study of Pollen Grains and Spores*. Munksgaard, Copenhagen. 486 pp.
- Muller J. 1973. Pollen morphology of *Barringtonia calyptrocalyx* K. Sch. (Lecythidaceae) *Grana* 13:29-44.
- Nilsson, S. y J. Pragłowski (ed.) 1992. *Erdtman's Handbook of palynology*. Munksgaard, Copenhagen 580 pp.
- Palacios-Chávez R.; B. Ludlow- Wiecher, y G. R. Villanueva 1991. *Flora palinológica de la reserva de la Biosfera de Sian Ka'an, Quintana Roo, México*. CIQRO. 321 pp.
- Punt, W.; S. Blackmore, S. Nilsson y A. L. E. Thomas 1994. *Glossary of pollen and spore terminology*. LPP Foundation, Utrecht. Series No. 1: 71pp
- Roubik, D. W. y P. J. E. Moreno 1991. *Pollen and Spores of Barro Colorado Island*. Missouri Bot. Garden. USA. Vol. 36: 1-269.
- Shu-Miaw, Chaw. y S. P. Darwin 1992. A systematic study of the paleotropical genus *Antirhea* (Rubiaceae: Guettardeae). *Tulane studies in Zoology and Botany*. Vol. 28 (2): 25-118.
- Vezev, E. L. y J. J. Skvarla 1994. Searching for a foveolate pollen exine. *Review of Palaebotany and Palynology*. 83: 73-81.
- Walker, J. W. 1974. Evolución of exine structure in the pollen of primitive angiosperms. *Amer. J. Bot.* 61 (8): 891-902.

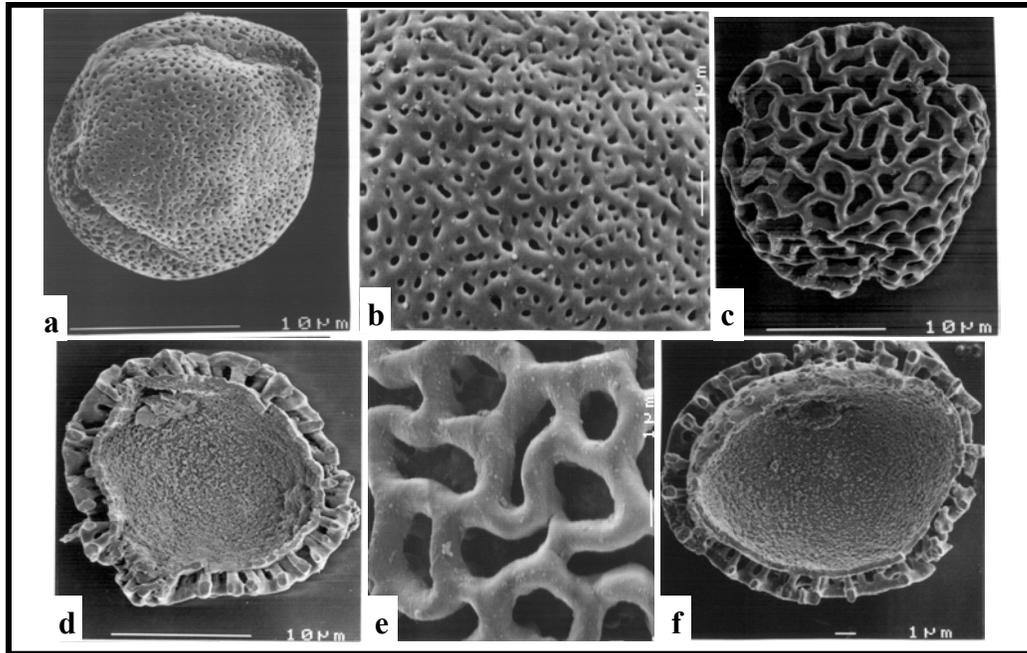


Fig. 1. (MEB) *Stenostomum abbreviatum* (a y b) a. Vista ecuatorial del grano de polen, donde se observan las aberturas x 3 500. b. Detalle de la ornamentación del tecto x 9 500. *S. apiculatum* (c-e). c. Vista polar mostrando ornamentación y aberturas x 2 500. d. Corte del grano, detalle de la endoabertura y estratificación de la exina x 3 300. e. Detalle de la ornamentación x 8 500. f. *S. lucidum* corte del grano mostrando endoaberturas y estratificación de la exina x 4 500.

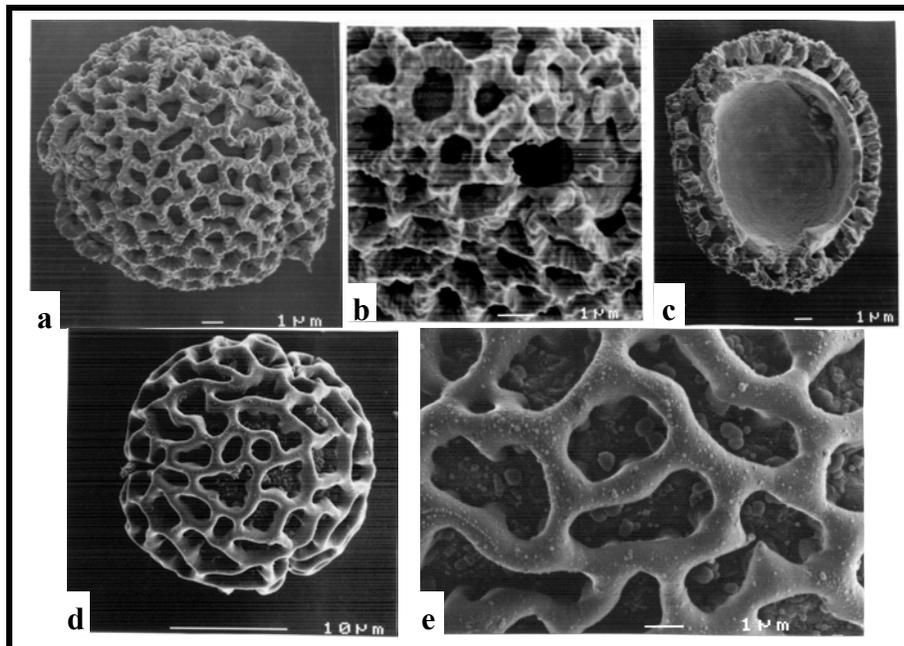


Fig. 2. (MEB) *Stenostomum multinerve* (a-c) a. Vista polar ornamentación y aberturas x 4 300. b. Detalle de la ornamentación y ectoabertura x 9 500. c. Corte del grano mostrando la endoabertura y estratificación de la exina x 4 300. *S. shaferi* (d y e) d. Vista polar del grano, aberturas y ornamentación x 2 700. e. Detalle de la ornamentación x 8 000.