

Universidad de los Andes
Facultad de Ciencias
Departamento de Ciencias Biológicas

El complejo de especie *Viburnum triphyllum* (Adoxaceae): un análisis
morfológico y una valoración de la distribución geográfica de la diversidad

Felipe Torres Vanegas
200718836

Directores:
Santiago Madriñán
Wendy Lee Clement

Bogotá, Colombia 2013

Tabla de Contenido

TABLA DE CONTENIDO	2
RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	3
MATERIALES Y MÉTODOS	6
<i>Muestreo y colecta</i>	6
<i>Digitalización</i>	8
<i>Análisis de morfometría lineal</i>	8
<i>Análisis Estadísticos: Morfometría lineal</i>	8
<i>Análisis de morfometría geométrica</i>	10
<i>Análisis Estadísticos: Morfometría geométrica</i>	13
RESULTADOS	14
<i>Morfometría Lineal</i>	14
<i>Morfometría Geométrica</i>	16
DISCUSIÓN	23
CONCLUSIONES	30
DIRECCIONES FUTURAS	31
TRATAMIENTO TAXONÓMICO	32
REFERENCIAS	37

Resumen

La especie *V. triphyllum* es un linaje con un amplio nivel de diversidad foliar que ha sido utilizado para instaurar tres grupos sub-específicos tipo con supuestas características definitorias. Este estudio evalúa si la diversidad foliar puede ser utilizada para dividir a este linaje en grupos morfológicos con características conspicuas y describe también como la misma se distribuye geográficamente. Se emplearon técnicas de morfometría lineal y geométrica, acompañadas también de una serie de estadísticos multivariados. Se encontró que *V. triphyllum* es un linaje compuesto por un único conglomerado morfológico, ya que la diversidad de hojas esta distribuida a lo largo de un continuo. No existen grupos morfológicos independientes, y la diversidad foliar no tiene un orden geográfico establecido. Además, el estudio proporciona una nueva propuesta en cuanto a la validez de los supuestos grupos sub-específicos tipo planteados en el tratamiento clásico de la especie.

Introducción

El complejo de especie *Viburnum triphyllum* (Adoxaceae:Dipsacales) representa, según observaciones cualitativas, un linaje caracterizado por una amplia variación morfológica foliar (Clement and Donoghue 2012; Donoghue, et al. 2004; Killip and Smith 1930). Esta misma ha sido utilizada para establecer la existencia de tres linajes sub-específicos dentro del complejo: a) *V. triphyllum microphyllum*, caracterizado por hojas obovadas y pequeñas [1.5-3 cm largo, 0.7-1.5 cm ancho]; b) *V. triphyllum macrophyllum*, grupo caracterizado por plantas robustas con hojas largas [12 cm] y anchas [6 cm]; y c) *V. triphyllum lanceolatum*, entidad con hojas lanceoladas tres veces tan largas como anchas [10-12 cm largo,

3-3.5 cm ancho] (Killip and Smith 1930) [Figura 1C, D, y E]. Sin embargo, esta distinción fue instaurada utilizando un numero muy limitado de ejemplares y no se tiene certeza si los distintos morfotipos propuestos corresponden a grupos con características y límites bien definidos (Clement 2012; Killip and Smith 1930).

Desde entonces, y sin tener en cuenta la variación morfológica foliar observada, un buen numero de ejemplares han sido descritos y asignados al complejo *V. triphyllum* (Clement 2012). Se cree que este linaje en particular muestra, a comparación con otras especies del genero, un nivel alto de polimorfismo foliar que ha sido utilizado cualitativamente para dividir al grupo en tres conjuntos (Clement 2012; Killip and Smith 1930) [Figura 1 C, D y E]. No obstante, la validez, caracterización y distribución de cada uno de los supuestos grupos sub-específicos dentro del complejo de especie están lejos de ser resueltos (Clement and Donoghue 2012; Clement 2012; Donoghue, et al. 2004; Killip and Smith 1930). Acorde a esto se han propuesto hipótesis (Clement 2012) contrastantes en donde se cree que el complejo *V. triphyllum* es, por un lado, una especie con un alto grado de variación foliar que describe un espectro continuo sin límites ni distribución definida, o por el otro, un linaje con grupos sub-específicos con características conspicuas y rangos geográficos restringidos.

Con en esto en mente, existe un motivo para descubrir mas acerca de la biodiversidad, clasificación y distribución de la variación foliar en *V. triphyllum*. Hasta el momento no se cuenta con un esfuerzo que pretenda cuantificar, caracterizar y resolver la organización interna del complejo de especie utilizando la variación morfológica foliar como materia prima.

La mayoría de poblaciones de *Viburnum triphyllum*, caracterizadas por presentar hojas verticiladas en tres [Figura 1B], se encuentran en regiones propias al bosque alto-andino [2400-2900 msnm] (Clement 2012; Donoghue 2012; Killip and Smith 1930) [Figura 3A]. El rango de distribución de esta especie comprende una región que va desde la sección norte de los Andes colombianos, pasando por las montañas ecuatorianas hasta la porción norte del Perú (Clement and Donoghue 2012; Donoghue, et al. 2004; Donoghue 2012; Killip and Smith 1930) [Figura 3A]. Sin embargo, las poblaciones están separadas por ríos y montañas volviendo al rango de distribución de este linaje en uno discontinuo (Clement 2012; Donoghue 2012; Vuilleumier and Monasterio 1987). Además, se ha reportado que las variantes tipo se encuentran en simpatría en regiones del sur de Ecuador y del Perú (Lopez 2003).

En este estudio se examina la diversidad morfológica foliar en poblaciones naturales de *V. triphyllum* procedentes del altiplano cundi-boyacense y otras regiones de Colombia y Ecuador. Se utilizan mediciones lineales y morfometría geométrica. La morfometría geométrica ha sido empleada en análisis que han no solo cuantificado la variación de la forma foliar, sino que también han discriminado diferentes grupos morfológicos componentes de un complejo de especie (Madeira, et al. 2012; Silva, et al. 2012; Vogler, et al. 2012; Zimmermann, et al. 2012). Esto permite describir la biodiversidad y estudiar su distribución geográfica (Madeira, et al. 2012; Shipunov and Bateman 2005; Silva, et al. 2012; Viscosi, et al. 2009; Vogler, et al. 2012; Zimmermann, et al. 2012).

El primer objetivo del estudio pretende cuantificar y describir la variación foliar de poblaciones naturales para así determinar la existencia o no de grupos sub-específicos caracterizados por una serie de rasgos compartidos. El segundo

objetivo principal examina y describe la distribución geográfica de la variación foliar a lo largo del rango de distribución de *V. triphyllum*. En específico se investiga lo siguiente:

1. ¿Existen, dentro de *V. triphyllum*, grupos sub-específicos caracterizados por una serie de rasgos foliares compartidos que difieren de las de los otros supuestos conjuntos?
2. ¿Cómo se distribuye la variación foliar geográficamente? Se evalúa si cada región geográfica tiene su propia firma de características foliares.
3. ¿Qué tan acertada es la división del complejo de especie en tres entidades tipo? ¿Se caracteriza cada uno de estos conjuntos morfológicos por su propia firma de rasgos foliares que difieren conspicuamente de las otras variantes?

Materiales y Métodos

Muestreo y colecta

Los individuos *Viburnum triphyllum* utilizados en el análisis morfométrico fueron colectados en seis localidades del altiplano cundi-boyacense [Figura 3C]. Cada localidad analizada fue considerada como una población natural independiente ya que estas mismas están separadas geográficamente por distancias que van entre los 15.6 y 151 km.

Las poblaciones en donde se recolectó fueron las siguientes: Tabio, Neusa, Guatavita, Chingaza, El Tablazo e Iguaque [Tabla 1].

En total se muestrearon 64 individuos diferentes. Estos sitios de colecta fueron escogidos porque representan regiones propias al bosque alto-andino y porque se tiene registro de la ocurrencia de *V. triphyllum* en los mismos. De cada

individuo se colectaron y prensaron de cuatro a seis ramas fértiles independientes. Los especímenes de colecta fueron depositados en el herbario Andes.

Además de estos especímenes, y para aumentar la ventana geográfica del estudio, se llevaron a cabo cuantificaciones en ejemplares digitalizados procedentes del Herbario Nacional Colombiano [COL] y el Herbario de la Universidad de Yale [YU]. De esta manera se logró incluir la variación foliar procedente de nueve localidades de Colombia y una de Ecuador [Figura 3B]. Con esta consideración adicional se tuvo en cuenta un total de 92 especímenes: 64 procedentes de un muestreo propio en el altiplano cundi-boyacense, 20 de otras localidades de Colombia y 6 de Ecuador [Tabla 1].

Adicionalmente, se incluyeron tres individuos tipo correspondientes a las formas *V. triphyllum macrophyllum*, *V. triphyllum microphyllum* y *V. triphyllum lanceolatum* [Figura 1 C, D y E] [*V. triphyllum macrophyllum*: Colombia o Venezuela: Linden 1331(K, tipo de *Oreinotinus triphyllum macro-phyllus*). *V. triphyllum microphyllum*: tipo Mathews 2114 colectado en Chachapoyas dept. Amazonas, Perú y depositado en el Herbario del Jardín Botánico de Kew. *V. triphyllum lanceolatum*: tipo Ruiz & Pavon colectado en Peru y depositado en el Herbario *Botanische Museum* de Berlin.] Estos tipos fueron obtenidos de la base de datos virtual de los herbarios Kew y el Field Museum de Chicago. Esto permitirá poner a prueba la validez de lo que se ha propuesto anteriormente con respecto a la división del complejo de especie basado en diversidad morfológica foliar.

Digitalización

Tras el protocolo de prensado, las diferentes secciones fértiles de cada individuo fueron manipuladas para extraer las porciones foliares. De cada rama fértil se consideraron todas las hojas del nodo que subtendía directamente a las inflorescencias. Las hojas fueron extraídas de la porción vegetativa y trasladadas a una placa blanca para su digitalización con una cámara digital de alta resolución y definición [Figura 2].

Las imágenes de los ejemplares de herbario fueron tratadas en Photoshop CS6 para llevar a cabo una extracción digital de las hojas. Se extrajeron únicamente las hojas del primer nodo después de la inflorescencia, para así crear una lamina digital con solo las porciones foliares de interés [Figura 2].

El número total y por localidad de individuos y de hojas cuantificadas esta relacionado en la Tabla 1.

Análisis de morfometría lineal

Utilizando las imágenes construidas en el proceso de digitalización, se cuantificó tanto el largo como el ancho de la lámina para cada individuo contemplado. Esto se realizó en ImageJ (Abramoff, et al. 2004) donde con una escala, se utilizó la herramienta de medición lineal. De cada placa foliar individual se llevó a cabo la determinación de dimensiones [largo y ancho] para solo un único nodo por espécimen. Estos datos sirven para estudiar la variación en el tamaño de las hojas y la relación entre el par de variables cuantificadas.

Análisis Estadísticos: Morfometría lineal

Se empleó un análisis de regresión múltiple después de que los parámetros para esta prueba estadística fueran comprobados [normalidad, relación lineal,

independencia de observaciones]. Esta prueba calcula no solo la varianza explicada por el modelo empleado, sino también la contribución relativa de las variables predictoras. El rasgo que se quiso predecir fue el largo foliar basado en el ancho de la hojas, su localidad y la altura sobre el nivel del mar. El análisis, llevado a cabo en SPSS (Corp. 2012) , fue acompañado por una estimación del valor R , R^2 y R^2 ajustado. Estas referencias sirven para valorar el nivel de correlación y para cuantificar la proporción de la varianza que es explicada por el modelo. Además se llevo a cabo un análisis ANOVA para examinar la significancia estadística de la regresión, cuantificando así el poder predictor de las variables independientes [ancho foliar, localidad, altura] sobre el largo foliar. Se computó un coeficiente beta para evaluar el grado de varianza de la variable dependiente que puede ser explicada por cada una de las variables predictoras usadas. Por último, se llevó a cabo una evaluación de la significancia estadística de cada una de las variables independientes.

Se empleó un análisis de correlación de Pearson para evaluar la dirección y magnitud de la asociación entre el largo y ancho de las hojas cuantificadas. De nuevo se validó que las variables no violaran los supuestos de la prueba. Se computó el coeficiente de correlación y su valor de probabilidad en SPSS (Corp. 2012).

Se utilizó una MANOVA de una sola vía para determinar si existen diferencias entre grupos [localidades] con respecto a dos variables dependientes [largo y ancho foliar]. Se quiere indagar acerca de la presencia de diferencias en el tamaño foliar con respecto a las diferentes localidades cuantificadas. Esta indagación fue computada utilizando el programa SPSS (Corp. 2012), asegurándose cumplir con los supuestos de la prueba. Se calculó una tabla de

estadísticos descriptivos para tener una idea sobre los promedios y desviaciones en las dimensiones foliares de cada una de las diferentes localidades. Se estimó el valor del Lambda de Wilk's (Grilo and Coelho 2012) con su valor de probabilidad respectivo para proponer si existen o no diferencias entre los grupos con respecto a sus dimensiones foliares [largo y ancho de la hoja].

Análisis de morfometría geométrica

Las hojas digitalizadas fueron analizadas en LeafAnalyzer (Weight, et al. 2008), programa que detecta las márgenes foliares, la punta apical y el valor del centroide de las mismas. A diferencia de la sección de morfometría lineal, se cuantificaron varios nodos por individuo.

LeafAnalyzer (Weight, et al. 2008) fue utilizado para distribuir 49 puntos de referencia [*landmarks*] que fueron espaciados uniformemente a lo largo de cada una de las 764 hojas tratadas. El primer punto de referencia equivale al centroide de la estructura y los 48 restantes fueron posicionados alrededor del margen. La posición de cada punto de referencia es calculado por el programa y guardado en coordenadas con valores *x* y *y* para así producir un modelo de puntos que caracterice el margen de la hoja (Weight, et al. 2008).

Ahora, debido a que cada uno de los 48 puntos calculados puede no ser homólogo entre diferentes individuos, el análisis debe modificarse ya que en ciertos casos, la utilización de puntos de referencia [*landmarks*] convencionales puede no ser suficiente para describir apropiadamente algunas estructuras biológicas con áreas grandes como hojas (Perez, et al. 2006; Slice 2007). Estas mismas se caracterizan por tener pocos puntos de referencia y la información estructural solo puede ser descrita por curvas o contornos (Adams, et al. 2004;

Perez, et al. 2006; Slice 2007; Zimmermann, et al. 2012). Por esta razón los puntos de referencia tradicionales no pueden ser usados (Perez, et al. 2006). Ahora, para cuantificar el contorno de un objeto se debe entonces emplear un método conocido como puntos de referencia deslizantes [*sliding semi-landmarks*] (Shipunov and Bateman 2005; Silva, et al. 2012). Estos mismos utilizan técnicas tradicionales de superposición Procrustes en donde se trasladan, escalan y rotan los puntos de referencia para minimizar la suma de cuadrados entre la distancia de puntos de referencia correspondientes (Adams, et al. 2004; Shipunov and Bateman 2005; Slice 2007; Zimmermann, et al. 2012). La técnica permite que estos mismos puedan deslizarse sobre la curva del contorno del objeto hasta que se ajusten en la mejor medida a las posiciones de una configuración de referencia (Perez, et al. 2006; Zelditch, et al. 2004). La gran ventaja de esta técnica es que las curvas tratadas son homologas entre individuos, característica que no es necesariamente cierta si se consideran únicamente puntos de referencia tradicionales (Adams, et al. 2004; Slice 2007; Viscosi and Cardini 2011; Viscosi, et al. 2009; Zelditch, et al. 2004).

Para lidiar con este inconveniente, se decidieron utilizar dos puntos de referencia tradicionales [base y ápice de la hoja] y 46 puntos de referencia deslizantes para caracterizar la forma foliar. Esto porque el ápice y la base de la lamina foliar corresponden a coordenadas homologas entre individuos pero los demás puntos, que describen el resto de la geometría foliar, no necesariamente. Para esto se convirtieron las descripciones foliares procedentes de LeafAnalyzer (Weight, et al. 2008) de coordenadas con valores x y y a archivos con formato TPS. Esta conversión fue ejecuta utilizando el programa CoorGen7a de la interfaz IMP (Sheets 2004). Los modelos de puntos, ahora en formato TPS,

fueron analizados en la programa TPSUtil (Rohlf 2009) para generar un archivo adicional [*sliders file*] en donde se especifique que puntos de referencia pueden deslizarse a lo largo del margen foliar, y por ende cuales se convertirán en puntos de referencia deslizantes y cuales no [ápice y base foliar].

Este *sliders file* es después combinado con el archivo TPS original mediante el programa TPSRelw (Rohlf 2005) para generar un alineamiento por superposición de tipo Procrustes para una combinación de puntos de referencia tradicionales y puntos deslizantes mediante técnicas de *thin-plate spline* (Bookstein 1989; Rohlf and Marcus 1993). El programa utiliza las posiciones de los puntos de referencia deslizantes para generar cambios en su conformación relativo a una configuración de referencia en donde se minimice la energía de doblado [*bending energy*] (Perez, et al. 2006; Silva, et al. 2012; Slice 2007; Zelditch, et al. 2004). TPSRelw (Rohlf 2005) calculó las deformaciones principales [*principal warps*] en donde se cuantifican, desde una configuración consenso, todas las transformaciones posibles para los objetos analizados (Rohlf and Marcus 1993). Las proyecciones de coordenadas de este análisis fueron tratadas en un análisis de componentes principales. Esto generó un archivo nuevo TPS en donde toda la variación morfológica no correspondiente a la geometría de las hojas fue eliminada [escala, posición y orientación]. Tras la superposición, las diferencias en la forma foliar están descritas mediante diferencias en las coordenadas de puntos de referencia correspondientes (Bookstein 1989; Slice 2007; Zelditch, et al. 2004).

Análisis Estadísticos: Morfometría geométrica

Los análisis estadísticos multivariados fueron realizados en MorphoJ (Klingenberg 2011). En la interfaz del programa se utilizaron dos conjuntos de datos. El primero corresponde a el conjunto entero de cuantificaciones descrito por las coordenadas de cada una de las hojas tratadas. El segundo set de análisis corresponde a los promedios de las configuraciones de coordenadas por individuo obtenidas en el proceso de superposición de Procrustes. Además, se eliminaron los valores extremos usando como referencia la distancia de Mahalanobis de cada hoja individual y su frecuencia acumulativa (Penny 1996). Tras el protocolo de superposición se calculó una matriz de covarianza entre las configuraciones foliares para así desarrollar un análisis de componentes principales. En este análisis, y mediante combinaciones lineales de las variables originales, se pueden crear un grupo de variables nuevas que resuman la varianza presente entre individuos (Shipunov and Bateman 2005; Silva, et al. 2012; Slice 2007).

Se utilizó otro método de ordinación: análisis de varianza canónico. Esta herramienta permite indagar sobre diferencias entre grupos [localidades en este caso]. El método utiliza patrones de variación intra-poblacional para construir un nuevo sistema de coordenadas que puede ser utilizado para evaluar diferencias entre los promedios de diferentes factores (Zelditch, et al. 2004). Esta indagación fue acompañada por la computación de la distancia Procrustes entre cada par de poblaciones y una prueba de permutación de 10000 repeticiones para evaluar diferencias estadísticas entre estas mismas (Adams, et al. 2004; Klingenberg 2011; Marcus, et al. 1996; Slice 2007).

Tanto el análisis de componentes principales como el análisis de varianza canónica fueron realizados ordenando los datos en dos escalas geográficas. La primera de estas fue compuesta por todo el conjunto de datos, creando una escala general que aborda diferentes localidades de Colombia y Ecuador. La segunda escala de análisis se basó en la examinación de muestras colectadas en el altiplano cundi-boyacense, creando así un análisis localizado.

Se empleó un análisis de regresión para examinar como se puede explicar la variación geométrica foliar con respecto al tamaño de las hojas [centroide] (Zelditch, et al. 2004). La regresión utilizó como variable dependiente las coordenadas Procrustes de cada hoja cuantificada y como variable independiente el logaritmo del tamaño del centroide (Adams, et al. 2004; Viscosi and Cardini 2011). Así se logrará examinar la hipótesis nula que propone que existe crecimiento isométrico, en donde la forma de las hojas no cambia con variaciones en su tamaño (Zelditch, et al. 2004).

Resultados

Morfometría Lineal

El análisis de regresión múltiple señaló que el largo de las hojas se puede predecir utilizando el ancho de la lámina, su localidad, y la altura sobre el nivel del mar. El valor estimado de R [0.697] indica que existe una relación positiva entre el largo foliar y el ancho de la hoja, la localidad, y la altura sobre el nivel del mar. Sin embargo, esta relación no supera el valor estipulado para sea considerado una asociación fuerte (Marcus, et al. 1996; Silva, et al. 2012), presentando así variación que no puede ser explicada por ninguna de las variables predictoras utilizadas. Se obtuvo un coeficiente de determinación

[$R^2=0.486$] que indica que las variables independientes explican el 48.6% de la variabilidad en el largo foliar. Se rescata de nuevo que existe una amplia variación en el largo foliar que no puede ser abordada por las variables explicativas. Para calcular la varianza de la variable dependiente con respecto a una única variable independiente, y evaluar su significancia estadística, se tuvo en cuenta los coeficientes beta calculados [Tabla 2]. La regresión estuvo también acompañada por una prueba ANOVA que señaló que las variables independientes predicen, con relevancia estadística, el largo foliar [$F=79.8$, $p<0.05$].

El análisis de correlación produjo un índice de Pearson [Tabla 3] que permite proponer que la relación entre el largo y ancho foliar es positiva. La relación está caracterizada por presentar relevancia estadística [$p<0.05$].

La prueba MANOVA tuvo asociada una tabla descriptiva en donde se reveló que los individuos procedentes de los departamentos de Tolima, Risaralda y Nariño presentan las hojas más largas y anchas que se catalogaron [Tabla 4]. Las dimensiones foliares más pequeñas se encontraron en localidades de Santander, Cundinamarca Cesar y Loja en Ecuador [Tabla 4].

El grupo completo de datos se caracteriza por un largo y ancho foliar promedio de 7.1 y 3.3 cm respectivamente, con desviaciones estándar de 1.483 para el largo y de 0.944 para el ancho de las láminas [Tabla 4].

El valor del Wilk's Lambda [0.38 , $F=10.028$, $p<0.05$] propone que existen diferencias en las dimensiones foliares con respecto a las distintas localidades consideradas. La prueba de efectos inter-sujetos mostró que estas últimas tienen un efecto significativo sobre el largo y el ancho foliar [Tabla 5]. Esto indica que la localidad o procedencia de cada hoja tiene un efecto sobre la

magnitud de las dimensiones foliares. Sin embargo, y debido a la pobre representación de algunas regiones geográficas [Nariño, Santander y Valle], esta conclusión debe ser puesta en duda y revisada mediante la ampliación de muestreo en estas localidades.

Morfometría Geométrica

Análisis de componentes principales

Distribución geográfica amplia: Colombia y Ecuador.

Los primeros dos componentes principales calculados [PC1 y PC2] explican el 43.845% y 34.406% de la varianza respectivamente.

El primer componente principal separa individuos según las características de la base de la hoja, su ápice y su ancho. Rasgos correspondientes a hojas agrupadas en los valores extremos negativos de este eje se caracterizan por poseer una base obtusa, en donde la lamina se inserta sobre el pecíolo en un ángulo mayor no solo a los 90°, sino también al presente en la configuración promedio [Figura 4A]. La base de estos individuos posee una morfología redonda, en donde el tejido de la lámina se extiende sobre el pecíolo de tal forma que genera un arco (Ash, et al. 1999). La lamina como tal es elíptica pero el contorno de la misma es mucho mas ancho. Por ultimo, el ápice de la lámina tiene una morfología obtusa [Figura 4A].

Ahora, los valores extremos positivos del primer componente principal agrupan a hojas elípticas con un contorno menos ancho en comparación con la configuración promedio y presentan también un ángulo basal agudo [Figura 4B]. La morfología de la base es cuneada, en donde el margen de la lámina y su inserción sobre el pecíolo se caracterizan por no presentar curvatura (Ash, et al.

1999). Por último el ápice presenta un ángulo mas agudo en comparación con la configuración promedio [Figura 4B].

El segundo componente principal separa la varianza mediante caracteres correspondientes a la base, el ancho y la morfología de las hojas. Valores extremos negativos caracterizan a individuos que poseen hojas elípticas más anchas en secciones cercanas a la base y el ápice [Figura 4C]. La base posee un ángulo agudo y presenta una morfología convexa en donde el margen posee un carácter que se aleja del centro de la lamina (Ash, et al. 1999) [Figura 4C].

Los valores extremos positivos para el segundo componente principal se caracterizan por presentar hojas elípticas ligeramente menos anchas. El ángulo basal de las mismas es agudo y de morfología entre convexa y redonda [Figura 4D].

En general este análisis revela que las diferencias entre las hojas cuantificadas son sutiles, ya que no se logró evidenciar una separación de las mismas mediante la cuantificación de las multi-variables [Figura 4]. Se obtuvo mas bien una distribución continua de puntos que caracteriza la variabilidad foliar del complejo de especie [Figura 4]. A este nivel no se puede separar a los objetos en grupos morfológicos independientes, ya que la varianza morfológica esta más bien distribuida continuamente a lo largo de los dos componentes principales [Figura 4].

Distribución geográfica reducida: El altiplano cundi-boyacense.

Aunque no se encontraron conglomerados morfológicos en el análisis de la escala geográfica amplia, lo que reduce las posibilidades de encontrar conjuntos a una escala menor, se trataran los resultados recuperados por esta indagación.

Los dos primeros componentes principales calculados abordan el 61.003% y 18.610% respectivamente. La relación entre PC1 y PC2 muestra que la diversidad de todas las hojas cuantificadas forma una nube de variación continua sin interrupciones claras [Figura 5]. Haciendo caso a esto parece que a esta escala geográfica la diversidad foliar no puede ser utilizada para dividir al complejo de especie en grupos morfológicos.

Los valores extremos negativos del PC1 caracterizan a hojas elípticas con un contorno mas ancho [Figura 5A]. Estas mismas presentan un ápice menos agudo y una base de morfología redonda [Figura 5A]. Valores extremos positivos del PC1 describen una forma foliar elíptica mas delgada que la configuración promedio, con una base y ápice agudo de morfología cuneada [Figura 5B]. Los valores extremos negativos del PC2 caracterizan a hojas ligeramente mas anchas en comparación con la configuración promedio. Estas mismas tienen rasgos de la base y del ápice que se asemejan cercanamente a la referencia [Figura 5C]. Valores extremos positivos presentan también morfologías apicales y basales muy parecidas a la configuración promedio, pero, sin embargo, las láminas son más delgadas [Figura 5D].

Análisis de Varianza Canónica

Distribución geográfica amplia [Colombia y Ecuador]: utilización de todas las hojas cuantificadas.

Las primeras dos variables canónicas [CV1 y CV2] calculadas abordan el 30% de la variación, cada una aportando el 19.723% y 10.780%, respectivamente.

El conjunto CV1 y CV2 reveló que existe una nube continua de puntos caracterizada por la ausencia de grupos morfológicos con estructura geográfica

[Figura 6]. Esto describe a la varianza en la forma foliar como un espectro continuo sin límites definidos.

Valores extremos negativos para la primera variable [CV1] describen una hoja elíptica más ancha con una base de morfología redonda [Figura 6A]. Los valores extremos positivos para esta misma variable caracterizan una forma foliar que es altamente semejante a la configuración promedio. Sin embargo, existen diferencias sutiles en el ángulo de la base y del ápice [base aguda y ápice obtuso] [Figura 6B]. Con respecto ahora a la segunda variable canónica [CV2], valores extremos negativos describen hojas elípticas más angostas. Estas mismas poseen una base y ápice de morfología aguda [Figura 6C]. Los valores extremos positivos caracterizan a hojas de morfología oblonga, bastante más anchas y con ángulos basales y apicales de carácter obtuso [Figura 6D].

La prueba de permutación reveló que 41 pares de poblaciones presentan diferencias importantes en cuanto a su distancia Procrustes [Tabla 6].

Distribución geográfica amplia [Colombia y Ecuador]: configuraciones promedio por individuo.

Las primeras dos variables canónicas calculadas [CV1 y CV2] aportan un poder explicativo del 27.782% y del 19.431%, respectivamente.

Este análisis reveló que existe un mayor grado de separación entre las diferentes localidades con respecto a su geometría foliar [Figura 7]. La distribución de datos según CV1 y CV2 muestra que existen por lo menos 5 grupos distintos. Sin embargo, parece ser que aunque aparentemente existan entidades morfológicas, no hay un ordenamiento geográfico claro. Un primer grupo está compuesto por individuos pertenecientes a la zona del Magdalena; el segundo conjunto esta

compuesto por individuos de Nariño y Risaralda; el tercer grupo esta constituido por individuos del Tolima; un cuarto grupo compuesto por los individuos de la variante foliar catalogada como *V. triphyllum microphyllum*; y el quinto conjunto compuesto por las localidades restantes propias al altiplano cundi-boyacense, Ecuador, Santander, Cesar, Cauca, Antioquia y las variantes foliares *V. triphyllum macrophyllum* y *V. triphyllum lanceolatum* [Figura 7]. Es interesante notar que la forma *V. triphyllum microphyllum* está constituida como un grupo independiente separado de cualquier configuración catalogada, mientras que las variantes *V. triphyllum macrophyllum* y *V. triphyllum lanceolatum* se encontraron anidadas dentro del quinto grupo. Esto señala que la configuración geométrica de estos tipos se asemejan a configuraciones encontradas en poblaciones naturales.

Sin embargo, estos resultados pueden ser un efecto de los valores promedio que no abarcan el rango completo de variación foliar sino que mas bien lo reducen a un único punto. Además de esto, existen localidades [Magdalena, Nariño, Cauca] que solo están descritas por un único individuo, factor que introduce sesgos y no representa la diversidad verdadera de estas regiones. Con esto en mente es importante considerar, que aunque este análisis dividió los datos en grupos morfológicos, que los diferentes sesgos ya descritos deben ser tenidos en cuenta y el aparente fraccionamiento debe ser invalidado.

Para este análisis, los valores extremos negativos del CV1 describen hojas que morfológicamente son muy similares a la configuración promedio excepto en la morfología de base. Individuos caracterizados por estos valores [Nariño, Risaralda] poseen una base menos aguda y mas ancha, describiendo una morfología convexa [Figura 7A]. Valores extremos positivos describen a individuos con solo diferencias sutiles en la región basal de la lamina donde esta

es un poco más delgada [Figura 7B]. La segunda variable canónica computada [CV2] muestra valores extremos negativos [Tolima, *V. triphyllum microphyllum*] que corresponden a hojas elípticas más anchas que presentan una base obtusa con morfología truncada, en donde la misma termina abruptamente con el margen perpendicular a la venación central (Ash, et al. 1999) [Figura 7C]. Valores extremos positivos [Magdalena] describen a individuos con hojas elípticas más delgadas y con una base muy aguda de morfología decurrente [Figura 7D]. Esta morfología describe una hoja donde la lámina se extiende a lo largo del pecíolo con ángulos que disminuyen gradualmente (Ash, et al. 1999). Parece ser que las diferencias entre la morfología foliar de individuos según ambos ejes computados son muy sutiles y se concentran únicamente en la región basal de la lámina.

La prueba de permutación reveló que existen 44 pares de localidades que difieren con respecto a su forma foliar [Tabla 8].

Distribución geográfica reducida [El altiplano cundi-boyacense]: utilización de todas las hojas cuantificadas.

Las dos primeras variables canónicas estimadas explican el 24.129% y 19.272%, de la variación calculada. Se encontró que la diversidad foliar puede ser caracterizada por una nube continua de puntos en donde no existen grupos morfológicos con un ordenamiento geográfico evidente [Figura 8]. Valores extremos negativos de la primera variable [CV1] describen hojas obovadas, donde la región más ancha se encuentra en el último tercio de la lámina (Ash, et al. 1999). Estas mismas presentan un contorno más delgado y una base aguda con morfología cuneada [Figura 8A]. Valores extremos positivos caracterizan

formas elípticas mas anchas con ángulos basales obtusos y de morfología redonda [Figura 8B]. Valores extremos negativos de la segunda variable canónica [CV2] son propios de hojas elípticas con un ángulo apical más agudo y una morfología basal lobada, donde existen proyecciones redondas dentro de las márgenes internas que rodean al pecíolo (Ash, et al. 1999) [Figura 8C]. Los valores extremos positivos de esta misma variable describen formas foliares muy parecidas a la configuración de referencia, pero sin embargo, estas presentan un porción basal mas aguda y de morfología cuneada [Figura 8D].

Descripción de las variantes tipo *V. triphyllum microphyllum*, *V. triphyllum macrophyllum* y *V. triphyllum lanceolatum*.

Los análisis que utilizaron las configuraciones foliares de cada hoja cuantificada [Figuras 6, 8] revelaron que las tres variantes tipo tienen configuraciones semejantes procedentes de poblaciones naturales. Esto puede validar su existencia, por lo menos en términos geométricos, ya que estas mismas están anidadas en la nube que caracteriza la distribución de la diversidad foliar. Siguiendo esto, parece que no existen limites claros entre los diferentes tipos ya que, como se mencionó, estos mismos hacen parte de la distribución continua de datos. No obstante, cuando se analizaron las configuraciones promedio por individuo se encontró que la variante *V. triphyllum microphyllum* tiene una posición alejada de cualquier otra configuración geométrica [Figura 7]. Los tipos *V. triphyllum macrophyllum* y *V. triphyllum lanceolatum* presentan nuevamente semejanzas con individuos procedentes de poblaciones naturales.

Regresión

Para este análisis se empleó el grupo completo de hojas. La gráfica en donde se relaciona la forma [coordenadas Procrustes] y el tamaño foliar [logaritmo del tamaño del centroide] muestra que este par de variables no se caracterizan por una relación lineal [Figura 9]. Esto indica que la forma de las hojas no cambia conforme la variación en el tamaño foliar. Además, esto es soportado porque se encontró, mediante la prueba de permutación, que la relación no se caracteriza por presentar un valor significativo de probabilidad [$p < 0.05$]. De esta manera, se puede proponer que para el complejo de especie *V. triphyllum* existe crecimiento isométrico.

La gráfica como tal caracteriza una relación extraña entre la forma foliar y el tamaño [Figura 9]. Parece que las hojas pequeñas son en general uniformes en forma. Sin embargo, a medida que el tamaño foliar se ve incrementado la variabilidad en la forma foliar incrementa también. La gráfica señala que las hojas grandes pueden dividirse en dos grupos morfológicos que difieren en su forma foliar.

Según en análisis, hojas pequeñas no se caracterizan por presentar cambios en su geometría con respecto a la configuración promedio, pero, sin embargo, hojas grandes si presentan una forma diferente que se puede definir por hojas con un contorno mas ancho y una base foliar redonda.

Discusión

Haciendo referencia a los análisis de ordinación de tanto el rango de distribución completo [Colombia, Ecuador], como el análisis de las muestras del altiplano cundi-boyacense, se pueden proponer patrones en común para describir la

variabilidad foliar de *V. triphyllum*. La variación de la diversidad cuantificada es continua y no existen agrupaciones de puntos correspondientes a entidades morfológicas. Los resultados indican más bien que este linaje debe ser caracterizado como un único conjunto. Además, se puede proponer que la variación morfológica foliar está distribuida sin una organización geográfica aparente. Esto porque láminas de poblaciones separadas por grandes distancias comparten morfologías foliares semejantes, y laminas de una misma región pueden presentar configuraciones dispares. Por ende, no es posible asignarle a una región una serie de características morfológicas compartidas.

Al mismo tiempo, parece que existe, entre las hojas pequeñas por lo menos, una configuración geométrica similar. Esto puede ser utilizado para sustentar los indicios que señalan que *V. triphyllum* es un linaje sin grupos morfológicos definidos. Si las hojas pequeñas, que parecen ser una buena proporción de todas las hojas cuantificadas, presentan una configuración geométrica similar donde las diferencias son pocas, entonces la carencia de grupos morfológicos independientes dentro del complejo de especie no es sorpresa. Sin embargo, a medida que el tamaño foliar aumenta también lo hace la diversidad de formas, y al parecer existen dos grupos morfológicos de hojas grandes.

Para responder la pregunta que examina si existen o no grupos morfológicos dentro de *V. triphyllum* con estructura geográfica, se considero el modelo de regresión lineal [Tabla 2]. Se brindó un primer acercamiento a que proporción de la varianza en el largo foliar puede ser explicada únicamente por efectos de la localidad. Se encontró, si consideran los coeficientes beta, que la localidad posee un valor bajo [0.222] en comparación con la magnitud del coeficiente del ancho foliar [0.657]. Esto indica que en el modelo de regresión general la localidad no

es una variable de peso cuando se quiere explicar el largo foliar. Esto puede ser interpretado como otro indicio que señala que la variación foliar no es un efecto de la localidad y que no tiene un orden geográfico establecido.

Sin embargo, la prueba MANOVA revela que existe un efecto de la localidad sobre las dimensiones foliares [prueba inter-sujetos y Lambda de Wilks] [Tabla 5]. No obstante, no se encontró que existiera un ordenamiento geográfico claro, sino que más bien parece que la diversidad morfológica está distribuida a lo largo del rango de distribución considerado. Sin embargo se encontró, basado en las dimensiones promedio por localidad, que las poblaciones del sur [Loja, Valle, Cauca] están por lo general caracterizadas por plantas con dimensiones foliares pequeñas. No obstante, el análisis reveló que plantas procedentes de Nariño, una localidad sureña, presenta individuos con algunas de las magnitudes más grandes para largo y ancho foliar. De esta manera, y aunque se pueda pensar en las poblaciones del sur como localidades caracterizadas por dimensiones pequeñas, existen también individuos [Nariño] que presentan algunas de las dimensiones foliares más grandes. Siguiendo esta línea de pensamiento, parece que las dimensiones foliares más grandes restantes se encuentran en localidades de la región central colombiana [Risaralda y Tolima], mientras que la zona del altiplano cundi-boyacense se caracteriza por presentar plantas con dimensiones intermedias entre las propias de Tolima y Risaralda, y las de las localidades sureñas [exceptuando Nariño]. Considerando ahora las localidades del norte (Cesar, Santander, Norte de Santander), se encontraron de nuevo dimensiones foliares pequeñas que se asemejan a las evidenciadas en Cauca, Valle y Loja. Al parecer se puede pensar en el ordenamiento geográfico planteado anteriormente, pero, sin embargo, este mismo se construyó utilizando solo los

promedios de largo y ancho de cada localidad considerada, haciendo a un lado la variabilidad intra-poblacional. Además de esto, la aparente estructura geográfica descrita no es uniforme, ya que dentro de cada localidad o región existe tal variación en las dimensiones foliares que hace que describir un ordenamiento geográfico general resulte difícil.

La prueba de permutación del CVA [Tablas 6, 7, 8, y 9] indica que existen diferencias en la distancia Procrustes entre diferentes localidades. Estos resultados concuerdan con los discutidos para la sección de morfometría lineal.

Parece ser que las localidades del sur [Ecuador, Valle, Cauca] presentan diferencias con las localidades de la región central [Tolima, Risaralda] y con algunas localidades del altiplano cundi-boyacense [Tablas 6 y 9]. Esto tiene sentido si se considera nuevamente lo descrito, en donde las regiones del sur, caracterizadas por dimensiones pequeñas, difieren de localidades centrales de dimensiones grandes y de algunas localidades del altiplano descritas por dimensiones intermedias. Ahora, se encontró que en general las poblaciones sureñas no presentan valores de probabilidad que puedan ser utilizados para proponer que existen diferencias con las localidades del norte [Cesar, Santander, Magdalena] [Tablas 6 y 9]. Esto concuerda con los resultados lineales en donde se encontró que localidades de estas dos regiones geográficas presentan dimensiones foliares muy similares. Sin embargo estos patrones no son generales porque se encontró, en concordancia con lo evidenciado en los análisis de morfometría lineal, que existen diferencias en las configuraciones geométricas entre individuos procedentes de una misma localidad. De igual manera, existen localidades que solo están representadas por un único individuo

[Valle, Cauca, Magdalena, Santander] y esto introduce sesgos al análisis ya que deja por fuera la variación verdadera característica de estas poblaciones.

Ahora, para empezar a indagar acerca de la validez de los grupos sub-específicos dentro del complejo de especie, se pueden comparar los valores promedio de las dimensiones foliares de poblaciones naturales con los mismos valores de los individuos tipo [Tabla 4].

Los promedios de largo foliar para las láminas cuantificadas están en una ventana que va desde los 5.8 cm [Neusa y Norte de Santander] hasta los 10.7 cm [Tolima], valores mayores a los típicos de *V. triphyllum microphyllum* [3.3 cm] y menores a los de *V. triphyllum macrophyllum* [12.0 cm] [Tabla 4]. Los promedios de ancho foliar presentan una tendencia similar. Se encontró de nuevo que los valores promedio del tipo *V. triphyllum macrophyllum* presentan magnitudes superiores [6.2 cm] a las evidenciadas en los ejemplares cuantificados. Sin embargo, esta vez si se recuperaron valores medios de ancho foliar que se asemejan a los promedios de los tipos *V. triphyllum lanceolatum* [3.6 cm] y *V. triphyllum microphyllum* [2.1 cm]. Esto porque se recuperó que esta magnitud está en un rango que va desde los 2.1 [Valle] hasta los 5.4 cm [Risaralda] [Tabla 4].

En general parece que la forma *V. triphyllum microphyllum* no esta presente en la colecta ya que, aunque se evidenciaron magnitudes del ancho foliar características de este tipo, no se recuperaron dimensiones del largo de la hoja que se asemejen a las dimensiones promedio de esta variante morfológica. No obstante, esta forma puede estar confinada únicamente a territorios peruanos donde supuestamente ha sido colectada antes (Killip and Smith 1930; Lopez 2003) o a regiones colombianas y ecuatorianas que no se consideraron. Las

dimensiones promedio de la forma *V. triphyllum lanceolatum* si fueron evidencias en poblaciones naturales, pero sin embargo, y debido a la falta de agrupaciones morfológicas con límites claros, este conjunto debe ser sinónimo de *V. triphyllum*. Además, las características definitorias de esta forma lanceolada propuestas en el tratamiento clásico (Killip and Smith 1930) han sido opacadas por el alto número de hojas tratadas. Finalmente, la longitud y ancho de la hoja tipo *V. triphyllum macrophyllum* fueron dimensiones que tampoco se evidenciaron. Sin embargo, esta tendencia ha sido reportada antes y se ha propuesto que este supuesto conjunto morfológico debe ser sinónimo de la especie *Viburnum hallii* (Clement 2012; Lopez 2003) ya que este par de linajes están cercanamente relacionados en varios aspectos. *V. hallii* puede presentar una filotaxis verticilada en donde se presenta una venación secundaria en la porción apical de la lámina, región que también presenta dientes glandulares (Lopez 2003). Se ha propuesto que estas características son compartidas por la forma *V. triphyllum macrophyllum* y por ende debe ser sinónimo de *V. hallii*. Se recuperaron, en los análisis CVA, láminas que se asemejan cercanamente a las configuraciones foliares típicas de los tres tipos del complejo de especie [Figuras 6 y 8]. Esto puede señalar que las morfologías propias a estas variantes existen en la naturaleza y por ende deben ser válidas. Sin embargo, y debido a el carácter continuo de la distribución de los datos, no existen límites que permitan diferenciar claramente entre *V. triphyllum macrophyllum*, *V. triphyllum microphyllum* y *V. triphyllum lanceolatum*. De esta manera todas estas formas deben ser sinónimo de la forma típica *V. triphyllum*.

La diversidad foliar catalogada puede ser también tratada desde una perspectiva que considere la variación genética de este género. Se sabe que nivel de

diferenciación entre linajes cercanamente emparentados de *Viburnum* es muy poco ya que se cree que las especies suramericanas son una radiación muy reciente (Clement and Donoghue 2012; Winkworth and Donoghue 2005). Además, se ha registrado que la variación genética dentro de estos linajes es pobre y los mismos están separados por distancias genéticas muy cortas (Winkworth and Donoghue 2004; Winkworth and Donoghue 2005). Esto puede ser relacionado con la idea que propone que *V. triphyllum* es un linaje compuesto por un continuo de variación morfológica sin divisiones, ya que la poca diversidad genética dentro del linaje ha generado que no se establezcan entidades morfológica independientes. Es tal el parecido del contenido genético de este linaje que no existen variantes moleculares que soporten la división del mismo en grupos morfológicos. Simultáneamente, el poco tiempo de divergencia de esta especie, desde la colonización de la cordillera andina, no ha sido suficiente para que se sienten diferencias genéticas que puedan catalizar la instauración de entidades morfológicas con características conspicuas.

Además de lo anterior, existen implicaciones ecológicas que pueden contribuir al escenario descrito a través de este estudio. Se ha registrado que cambios sutiles en el contenido de agua, el tipo de suelo, el pH, y la calidad del mismo a través de distancias muy cortas, pueden tener implicaciones considerables en los fenotipos y diversidad foliar de plantas (Assogbadjo, et al. 2012; Rocas, et al. 2001; Souto, et al. 2009). Se ha encontrado que plantas que habitan regiones iguales, y aparentemente bajo las mismas condiciones ecológicas, pueden presentar una alta diversidad en sus rasgo foliares (Choi, et al. 2006; Rocas, et al. 2001). Esto parece, es consecuencia de modificaciones sutiles en las características de suelo (Choi, et al. 2006; Souto, et al. 2009). Si esto ocurriese en *V. triphyllum*, se podría

explicar porque se encuentran morfologías foliares muy diferentes en poblaciones que comparten una misma región geográfica o un mismo escenario ecológico. Además, estas modificaciones en el suelo pueden también contribuir a la generación de un continuo de variación ya que estas mismas, mediante la modificación de los rasgos de las hojas, impiden la fijación de variantes foliares con características definidas. Por otro lado, la herbívora también puede ser un factor que puede, en potencia, ayudar a explicar la variación de la hojas. Se sabe que la intensidad de herbivoría puede generar plantas con hojas modificadas que se caractericen por presentar una resistencia mecánica incrementada (Kudo 2003; Spencer, et al. 2010). Ahora, diferentes regiones, que pueden ser influenciadas por distintos tipos e intensidades de herbivoría, pueden modular las características de las hojas y producir el continuo de variación que fue evidenciado.

Conclusiones

Los análisis revelaron que la variabilidad morfológica de las hojas esta dada por cambios en el ancho de la misma y por el ángulo y morfología de la base y el ápice de la lamina. En general este estudio revela que *V. triphyllum* es una especie que carece de grupos morfológicos independientes, mas bien la diversidad foliar debe ser descrita por un espectro continuo. Además, y como ya se trato, parece que la variación foliar no tiene un ordenamiento geográfico establecido. Se entiende que la diversidad foliar está distribuida a lo largo del rango de distribución de *V. triphyllum* y no existen regiones geográficas con una serie de características morfológicas firma que son compartidas e independientes de las demás localidades.

Con respecto a la validez de los tipos, no se encontraron dimensiones foliares propias a las variantes *V. triphyllum macrophyllum* y *V. triphyllum microphyllum*, lo que pone en duda el esquema de clasificación elaborado por Killip y Smith a mediados del siglo XX. Según esto se puede hacer caso a la propuesta en donde *V. triphyllum macrophyllum* debe ser parte de la especie *V. halli* (Lopez 2003) y donde la forma *V. triphyllum microphyllum* está confinada a regiones del Perú y Ecuador que no fueron consideradas en este análisis.

La falta de límites dentro de la diversidad foliar del complejo de especie deshace la idea de que existan los tipos, ya que resulta muy difícil proponer barreras o características conspicuas que los caractericen. Por esta razón, la forma *V. triphyllum lanceolatum* debe ser sinónimo de la forma típica.

En general este estudio brinda la primera perspectiva acerca del análisis morfométrico del complejo de especie *V. triphyllum*. Se provee evidencia que señala que este linaje es uno que puede ser descrito por una amplia diversidad foliar que compone un espectro continuo sin grupos morfológicos independientes ni un ordenamiento geográfico.

Direcciones Futuras

Resulta imprescindible aumentar la calidad del muestreo. Análisis futuros deben estar caracterizados por dos componentes. Primero: aumentar el tamaño de muestreo en regiones pobremente representadas en este estudio [Magdalena, Cauca, Valle, Santander]. Segundo: aumentar la ventana geográfica considerada. Se deberá incluir especímenes procedentes de múltiples localidades de Ecuador y Perú.

Para lograr descomponer más la diversidad dentro de *V. triphyllum* se recomienda considerar más caracteres vegetativos y reproductivos. Se podrían cuantificar dimensiones de las inflorescencias y de las flores para evidenciar si estas pueden ser útiles para el fraccionamiento o no del linaje. Además se podrían considerar caracteres discretos [pubescencia, glándulas] para evidenciar si la presencia o ausencia de estos puede ser empleada para generar una segregación de morfotipos.

Resultaría interesante desarrollar un estudio de floración en donde se evalué los tiempos de este fenómeno. Estos datos podrían ser relacionados con la información morfométrica para evaluar si existen diferencias en el tiempo de floración de diferentes regiones geográficas y si estas están asociadas a alguna variante morfológica como tal.

En una última instancia se podría desarrollar un análisis de genética de poblaciones en donde se evalué si las diferentes poblaciones son entidades genéticas separadas. Este estudio también proveerá evidencia que cuantifique la diversidad genética, dato que podrá ser utilizado para explicar parcialmente la diversidad foliar. Un estudio filogenético también proveerá información útil que pueda ser utilizada para datar la radiación del linaje y así relacionar la evolución del mismo con fenómenos geológicos como el levantamiento de la cordillera Andina.

Tratamiento Taxonómico

Viburnum triphyllum Benth. *Pl. Hartw.* 188. 1845. *Oreinotinus triphyllus* s (Benth.) Oerst. *Kjoeb. Vid. Medd.* 1860: 290. 1861. Tipo. Colombia. Cundinamarca,

“Paramo de Zipaquira, prov. Bogota,” sin fecha, *Hartweg* 1040 (holotipo: K x2; isotipos: B, Y). Figuras 10-11.

Oreinotinus triphyllum macrophyllum Oerst. *Kjoeb. Vid. Medd.* 1860: 290. 1861.

Viburnum triphyllum macrophyllum (Oerst.) Killip & A.C Sm. *Bull. Torrey Bot. Club* 57(4): 253. 1931. Tipo. Colombia “Nueva Granada”, 1842–3, *Linden* 1331 (holotipo: K x2). Figuras 12-13.

Oreinotinus laurifolius Oerst. *Kjoeb. Vid. Medd.* 1860: 291. t. 6, f. 11–17. 1861.

Viburnum triphyllum microphyllum Killip & A.C. Sm. *Bull. Torrey Bot. Club* 57(4): 252. 1931. Tipo. Perú. Amazonas, Chachapoyas, 1836, *Mathews* 2114 (holotipo K). Figura 14.

Viburnum triphyllum lanceolatum Killip & A.C. Sm. *Bull. Torrey Bot. Club* 57(4):

253. 1931. Tipo. Perú. sin loc. sin fecha, *Ruiz & Pavon* s.n. (holotipo B).

Paratipo Perú. Amazonas, Chachapoyas. sin fecha, *Mathews* 2027 (K?)

Arboles: ramas acrotónicas; con inflorescencias terminales subtendidas por múltiples nodos verticilados; ramas pequeñas teretes; epidermis marrón claro-oscuro; indumento persistente y glabro; en general árboles de 2-6 metros de altura; con múltiples ramificaciones basales (30-60 cm diámetro) que divergen en numerosas ramas independientes (2-5 cm diámetro) con inflorescencias terminales.

Hojas: pecíolos largos y delgados; cilíndricos; láminas planas y enteras; punto más ancho ubicado en la mitad de la lámina (morfología elíptica); base aguda hasta obtusa o redonda; ápice agudo hasta obtuso; acuminadas en el ápice de la lámina; vena primaria prominente y pinnada; venas secundarias numerosas; equidistantes y de patrón de ramificación reticulodroma; venas prominentes en el envés de la lámina; láminas en su mayor parte glabras excepto en ciertos casos

que presentan pubescencia en el envés de la lamina cerca de la base de la misma. Las cuantificaciones revelaron lo siguiente: valor promedio de largo foliar: 7.1 cm; valor máximo: 10.7 cm; valor mínimo: 5.8 cm; valor promedio de ancho foliar: 3.3 cm; valor máximo: 5.3 cm; valor mínimo: 2.1 cm.

Notas de campo: árboles de 2 a 6 metros de altura; aparentemente florecen o están fértiles todo el año; inflorescencias tipo corimbo numerosas; terminales y con flores de perianto, androceo, y gineceo blanco; flores con aroma dulce que atrae a polinizadores tipo abeja que utilizan la estructura del corimbo como superficie de aterrizaje; ramas tipo chupón largas y con morfologías foliares diversas llegando a presentar hojas con lóbulos; corteza marrón; madera amarilla pálida que se oxida a naranja rápidamente; hojas sin olor; el haz de la lamina verde oscuro; el envés verde claro.

Distribución: *Viburnum triphyllum* se distribuye a lo largo de la cordillera de Los Andes, desde el norte de Colombia, pasando por Ecuador, hasta el centro de Perú.. Se encuentra mayoritariamente en bosques de tipo alto-andino; por lo general entre los 2200 y 2800 msnm. Individuos fértiles pueden ser hallados a lo largo de todo el año y a través del rango de distribución completo. Al parecer la semillas germinan inmediatamente entran en contacto con el suelo.

Especímenes examinados. COLOMBIA. ANTIOQUIA: Municipio de Rionegro, 16, Oct. 1981, *Orozco* 972, (COL); Medellín, 13, Ago. 1994, *Fonnegra & Roldan* 4944, (COL); Municipio San Pedro, 7, May. 1988, *Zarucchi & Echeverri* 6304 (COL, MO). **CAUCA:** Municipio de Almaguer, Vereda Julián, 9 Mar. 2003, *Macías & Ramírez* 2892 (COL); Municipio San Sebastián, Corregimiento Valencia, 31, Mar, 1995, *J.R.* 431, (COL); Municipio de Totoró, Vereda Santa Teresa, 24, Mar. 2004, *Córdoba* 4206 (CRC, COL). **CESAR:** Municipio de San Alberto, Vereda

Montenegro, 12 Oct. 2006, s.n (COL); Municipio de San Alberto, Vereda Montenegro, 12, Oct. 2006 *NCA* 2141, (COL); Serranía del Perijá, Municipio Manaure, 5, Nov, 1993, *Rangel*, s.n. (COL); Serranía del Perijá, Municipio Manaure, 7, Nov. 1993, *Rangel*, s.n. (COL); Serranía del Perijá, Municipio Manaure, 16, Nov. 1993, *Pardo & Olmos*, 340, (COL); Serranía del Perijá, Municipio Manaure, Finca Vista Hermosa, 13, Nov, 1993, *Rangel*, 11359, (COL); Municipio de San Alberto, Vereda Monte Negro, Finca San Blas, 12, Oct. 2006, *NCA* 2141, (COL). **CUNDINAMARCA:** Municipio de Tabio, 26, Ene. 2013, *Torres* 121-136, (ANDES); Municipio de Neusa, Laguna del Neusa, 26, Ene. 2013, *Torres* 137-145 (ANDES); Municipio de Tabio, Laguna de Guatavita, 2, Feb. 2013, *Torres* 145-154 (ANDES); Municipio de La Calera, Parque Nacional Natural Chingaza, 9, Feb. 2013 *Torres* 155-164 (ANDES); Municipio de Subachoque, Paramo el Tablazo, 16, Feb. 2013 *Torres* 165-175 (ANDES). **BOYACA:** Municipio El Espinal, Caño del Chicamocha, 18 Mar. 1991, *Etter* 423 (COL); Municipio de Chiscas, Vereda Duartes, 8 Jul. 2003, *RGT* 1294 (COL); Ventaquemada, 28 Feb. 1973, *Uribe* 6771 (COL); Sutamerchán, Vereda en Ermitaño Alto, 8 Abr. 2003, *Prieto* 1505 (COL); Villa de Leyva, Santuario de Flora y Fauna Iguaque, 23, Feb, 2013, *Torres* 165-176 (ANDES). **MAGDALENA:** Sierra de Perijá, 15, Nov. 1959, *Cuatrecasas*, 25347 (COL). **NARIÑO:** Municipio Mallama, Vereda Pueblo Viejo, Paramo del Infiernilo, 9, Ene. 2009, *Rivera* 4171 (COL). **NORTE de SANTANDER:** Pamplona, Finca El Volcán, 1998, *Tocano & Schweiger* 26 (COL); Hoya de Mutiscua, 27, Jul. 1940, *Cuatrecasas* 10267 (COL). **RISARALDA:** Municipio de Santuario, Vereda “Los Planes”, 23 Feb. 1983, *Cleef & Rangel* 2151 (COL); Municipio de Apía, Vereda “La Cumbre,” 24 Feb. 1983, *Cleef & Rangel* 2247 (COL); Municipio Santuario, Vereda “Los Planes,” 23, Feb. 1983, *Cleef & Rangel* 2151 (COL).

SANTANDER: Paramo Almorzadero, 20, Jul. 1940, *Cuatrecasas* 9963, (COL); Zapatoaca, 26, Jul. 1975, *Gentry & Forero*, 15442, (COL); Municipio Chipatá, Vereda Mulatal, Oct. 2007, *Serralde* 55 (COL). **TOLIMA:** Municipio de Santa Isabel, 13, Feb. 1980, *van der Hammen* 6394 (COL); Municipio de Santa Isabel, 13, Feb. 1980, *van der Hammen* 6394, (COL). **VALLE DEL CAUCA:** Villa Colombia, Finca La Mesita, 27, Mar. 1983, *Gentry* (COL).

ECUADOR. LOJA: Yangana-Valladolid, sin localidad definida, 7, Sep. 2010, *Sweeny* 1714, 1716-1718, 1722-1723 (YU).

Morfología foliar de *Viburnum triphyllum*: Especímenes en su mayoría presentan hojas verticiladas en tres. La especie en general es variable con respecto a las dimensiones y geometría de sus hojas. No obstante, el tratamiento clásico propuesto por Killip & Smith debe ser re propuesto.

Se plantea que *V. triphyllum macrophyllum* debe ser ahora sinónimo de *Viburnum hallii* (Lopez 2003). El conjunto *V. triphyllum microphyllum* puede estar confinado a los territorios peruanos y de Ecuador, localidades que no fueron catalogadas en este estudio. Se propone que esta forma está ausente del territorio colombiano considerado y de la localidad de Loja en Ecuador.

Por otro lado, se propone que el continuo de formas foliares está constituido, en alguna medida, por configuraciones geométricas y dimensiones foliares propias a *V. triphyllum lanceolatum*. No obstante, esta variante, que fue la única con semejantes procedentes de poblaciones naturales, no debe tener validez taxonómica ya que no presenta límites y características claras con respecto al resto de la diversidad cuantificada y debe ser sinónimo de la forma típica de la especie.

Referencias

- Abramoff, M.D, P.J Magalhaes, and S.J Ram
2004 Image Processing with ImageJ. *Biophotonics International* 11(7):36-42.
- Adams, D. C., F. J. Rohlf, and D. E. Slice
2004 Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology* 71(1):5-16.
- Ash, A, et al.
1999 *Manual of Leaf Architecture*. Smithsonian Institution 1(1):1-65.
- Assogbadjo, A. E., et al.
2012 Variation in biochemical composition of baobab (*Adansonia digitata*) pulp, leaves and seeds in relation to soil types and tree provenances. *Agriculture Ecosystems & Environment* 157:94-99.
- Bookstein, Fred L.
1989 Partial Warps: Thin-Plate Splines and the Decomposition of Deformations. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Inteligence* 11(6):567-585.
- Choi, H. S., et al.
2006 Seasonal variations of nutrient status in soil and leaves, soil properties, and tree growth under different organic apple groundcover management production systems. *Hortscience* 41(4):1032-1032.
- Clement, W. L., and M. J. Donoghue
2012 Barcoding success as a function of phylogenetic relatedness in *Viburnum*, a clade of woody angiosperms. *Bmc Evolutionary Biology* 12.
- Clement, W.L
2012 Notes on the Morphological Diversity of *Viuburnum triphyllum*. T. F., ed. New Jersey.
- Corp., IMB
2012 *IMB SPSS Statistics for Windows*. In Armonk, NY: IBM Corp. N.I.C. Armonk, ed. New York, USA: Armonk, NY: IBM Corp.
- Donoghue, M. J., et al.
2004 *Viburnum* phylogeny based on chloroplast trnK intron and nuclear ribosomal ITS DNA sequences. *Systematic Botany* 29(1):188-198.
- Donoghue, M.J
2012 On the diversity, distribution and characterization of *Viburnum triphyllum*. F. Torres, ed. Bogota, Colombia.
- Grilo, L. M., and C. A. Coelho
2012 A Family of Near-Exact Distributions Based on Truncations of the Exact Distribution for the Generalized Wilks Lambda Statistic. *Communications in Statistics-Theory and Methods* 41(13-14):2321-2341.
- Killip, E.P, and A.C Smith
1930 The South American Species of *Viburnum*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 57(4):245-258.
- Klingenberg, C. P.
2011 MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11(2):353-357.
- Kudo, G.

- 2003 Variations in leaf traits and susceptibility to insect herbivory within a *Salix miyabeana* population under field conditions. *Plant Ecology* 169(1):61-69.
- Lopez, Jose Homero Vargas
2003 Taxonomic Revision of *Viburnum* (Adoxaceae) in Ecuador. St. Louis, USA: University of St. Louis.
- Madeira, C., et al.
2012 Tracing geographical patterns of population differentiation in a widespread mangrove gastropod: genetic and geometric morphometrics surveys along the eastern African coast. *Biological Journal of the Linnean Society* 107(3):647-663.
- Marcus, Leslie F., et al.
1996 *Advances in Morphometrics*. New York, USA: Plenum Press.
- Penny, Kay I.
1996 Appropriate Critical Values When Testing for a Single Multivariate Outlier by Using the Mahalanobis Distance. *Journal of the Royal Statistical Society* 45(1):73-81.
- Perez, S. I., V. Bernal, and P. N. Gonzalez
2006 Differences between sliding semi-landmark methods in geometric morphometrics, with an application to human craniofacial and dental variation. *Journal of Anatomy* 208(6):769-784.
- Rocas, G., F. R. Scarano, and C. F. Barros
2001 Leaf anatomical variation in *Alchornea triplinervia* (Spreng) Mull. Arg. (Euphorbiaceae) under distinct light and soil water regimes. *Botanical Journal of the Linnean Society* 136(2):231-238.
- Rohlf, F. James, and Leslie F. Marcus
1993 A Revolution in Morphometrics. *Trends in Ecology and Evolution* 8(4):129-132.
- Rohlf, F.J
2005 Relative warps version 1.42. In [Tesis II.docx](#). <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>, ed. NY, USA: SUNY Stony Brook.
- 2009 tpsUtil version 1.44. In <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>. <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>. ed. NY, USA: SUNY Stony Brook.
- Sheets, H. David
2004 IMP: Integrated Morphometrics Package. In *Canisius College at Buffalo. C.C.a. Buffalo*, ed. Buffalo, NY, USA: Canisius College at Buffalo.
- Shipunov, A. B., and R. M. Bateman
2005 Geometric morphometrics as a tool for understanding *Dactylorhiza* (Orchidaceae) diversity in European Russia. *Biological Journal of the Linnean Society* 85(1):1-12.
- Silva, M. F. S., I. M. De Andrade, and S. J. Mayo
2012 Geometric morphometrics of leaf blade shape in *Montrichardia linifera* (Araceae) populations from the Rio Parnaiba Delta, north-east Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society* 170(4):554-572.
- Slice, D. E.
2007 Geometric morphometrics. In *Annual Review of Anthropology*. Pp. 261-281. *Annual Review of Anthropology*.
- Souto, C. P., A. C. Premoli, and P. B. Reich

- 2009 Complex bioclimatic and soil gradients shape leaf trait variation in *Embothrium coccineum* (Proteaceae) among austral forests in Patagonia. *Revista Chilena De Historia Natural* 82(2):209-222.
- Spencer, D. F., W. Tan, and L. C. Whitehand
2010 Variation in *Arundo donax* stem and leaf strength: Implications for herbivory. *Aquatic Botany* 93(2):75-82.
- Viscosi, V., and A. Cardini
2011 Leaf Morphology, Taxonomy and Geometric Morphometrics: A Simplified Protocol for Beginners. *Plos One* 6(10).
- Viscosi, V., et al.
2009 Geometric morphometric analyses of leaf variation in four oak species of the subgenus *Quercus* (Fagaceae). *Plant Biosystems* 143(3):575-587.
- Vogler, R. E., et al.
2012 Threatened Neotropical mollusks: analysis of shape differences in three endemic snails from High Parana River by geometric morphometrics. *Revista Mexicana De Biodiversidad* 83(4):1045-1052.
- Vuilleumier, Francois, and Maxima Monasterio
1987 *High Altitude Tropical Biogeography*. USA: Oxford University Press.
- Weight, C., D. Parnham, and R. Waites
2008 LeafAnalyser: a computational method for rapid and large-scale analyses of leaf shape variation. *Plant Journal* 53(3):578-586.
- Winkworth, R. C., and M. J. Donoghue
2004 *Viburnum* phylogeny: evidence from the duplicated nuclear gene GBSSI. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33(1):109-126.
- 2005 *Viburnum* phylogeny based on combined molecular data: Implications for taxonomy and biogeography. *American Journal of Botany* 92(4):653-666.
- Zelditch, Miriam Leah, et al.
2004 *Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer*. New York, USA: Elsevier Academic Press.
- Zimmermann, G., et al.
2012 Geometric morphometrics of carapace of *Macrobrachium australe* (Crustacea: Palaemonidae) from Reunion Island. *Acta Zoologica* 93(4):492-500.