

Artículo original

Variabilidad de frutos y plántulas de *Coccoloba uvifera* L. en ecosistemas costeros de Cuba

Raúl C. López-Sánchez^{1*}

Mijail Bullain-Galardis¹

Juan Torres-Rodriguez¹

Ernesto Gómez-Padilla¹

Raúl Campos-Posada²

Gloria Campos-Posada²

Bettina Eichler- Löbermann³

Ludovic Pruneau⁴

Amadou Ba⁴

¹Universidad de Granma, carretera Manzanillo, km 17, Bayamo 85100, Granma, Cuba

²Universidad Autónoma de Coahuila, Barranquilla sin número, Colonia Guadalupe, Monclova, Coahuila, C. P. 25730, México

³Departamento de Ciencias de las Plantas, Facultad de Agricultura, Universidad de Rostock. Justus-von Liebig-Weg 6 18059 Rostock, Alemania

⁴Université des Antilles 97159, Pointe-à-Pitre, Guadalupe, Francia

* Autor para correspondencia. rllopezs@udg.co.cu

RESUMEN

Se colectaron frutos de uva de playa (*Coccoloba uvifera* L.) en zonas costeras al norte y al sur de Cuba, en tres localidades: Guardalavaca, Cayo Coco y Las Coloradas, con el objetivo de evaluar la variabilidad morfológica y fisiológica en frutos y plántulas de esta especie. Se evaluó la masa, el diámetro y el largo de los frutos y de las semillas. Las semillas colectadas fueron sembradas en condiciones de viveros; seis meses después se evaluaron las características morfológicas de las plántulas: altura de tallo, longitud de la raíz, masa seca del tallo y la raíz, así como características fisiológicas: contenido de agua en las hojas y las raíces, fluorescencia de la clorofila, área foliar y área foliar específica. Se calcularon las correlaciones entre todos los indicadores evaluados. Los resultados mostraron variaciones significativas en las

características de los frutos y el crecimiento de las plántulas de uva de playa provenientes de las localidades estudiadas. Los frutos de la localidad Guardalavaca mostraron mayor tamaño y las semillas de la localidad Cayo Coco fueron las de mayor talla y masa. En el caso de las plántulas las de Cayo Coco mostraron los mayores valores de acumulación de biomasa en la parte aérea y en la raíz y de acumulación de agua en sus tejidos. Se encontró una relación directa entre los parámetros de las semillas e indicadores morfológicos y fisiológicos. Se recomiendan ensayos de biología molecular para estudiar si existen diferencias genéticas en la misma especie, así como identificar los mecanismos adaptativos de las plántulas a las condiciones estresantes donde se desarrollan.

Palabras clave: diversidad, crecimiento, morfología, fisiología, uva de playa

Recibido: 09/07/2018

Aceptado: 30/01/2019

INTRODUCCIÓN

Coccoloba uvifera (L.), conocida comúnmente como uva de playa, es un árbol o arbusto pequeño y con ramificaciones a un nivel bajo, que crece hasta los 15 m de altura. Posee ramas gruesas y lisas y un tronco robusto que alcanza hasta los 70 cm en diámetro. Es común en las dunas costeras y las costas rocosas dentro de su distribución natural en el Caribe. Se puede reconocer con facilidad por sus hojas grandes, gruesas y casi circulares y los racimos en forma de uvas comestibles. Puede ser encontrada en la Florida, México, el Caribe y en América Central hasta en Sudamérica ⁽¹⁾ y preferentemente en todo el litoral costero formando parte importante de la vegetación costera ⁽²⁾. Su tolerancia a los suelos salinos y al rocío del mar la hacen una especie nativa excelente en las costas como barreras contra el viento y para la recuperación de dunas costeras ⁽³⁾. La uva de playa tiene perspectivas debido al uso que se le puede dar como madera, leña, así como las propiedades medicinales de sus hojas y frutos ^(2,4). En la flora de Cuba, se reportan 34 especies del género *Coccoloba* y se presenta un alto nivel de endemismo (25 especies), lo que probablemente es la consecuencia de la presencia de esta especie en las islas aledañas a Cuba ⁽⁵⁾; por otra parte, para fines de conservación de la especie y programas de restauración, la mejor opción es reproducirla a partir de semilla para promover la variabilidad genética ⁽²⁾. Por lo que la domesticación de la uva de playa resulta importante no solo para la protección de los ecosistemas costeros, sino también para uso en alimentación animal, medicina natural y generación de ingresos. La domesticación de especies arbóreas conlleva a la caracterización cuantitativa de los frutos, su valor nutritivo, la morfología y la

ecofisiología de las poblaciones nativas ⁽⁶⁾. El uso de especies arbóreas nativas es potencialmente útil para contribuir a la seguridad alimentaria y la nutrición ^(6,7).

La distribución de la variación entre distintas áreas geográficas es de gran interés para la conservación de la diversidad biológica. Esto es especialmente importante para especies de interés comercial, donde la diversidad genética constituye una fuente de genes que pueden ser incorporados en programas de mejoramiento genético tanto en plantas como en animales ⁽²⁾.

La diversidad de los caracteres morfológicos constituye la espina dorsal de los estudios sobre la diversidad genética en cualquiera de sus niveles ⁽³⁾. En el caso de las especies cultivadas, este tipo de información ha sido ampliamente utilizada para discriminar entre materiales procedentes de distintas regiones geográficas y ha permitido un manejo más eficiente de los bancos de germoplasma en los grandes centros internacionales ⁽⁴⁾. Estos trabajos también han permitido establecer relaciones genéticas entre cultivares y razas locales de diferente origen y; además, han permitido relacionar la diversidad observada con diferentes regiones geográficas y otros elementos del ambiente físico ⁽⁸⁾.

Teniendo en cuenta lo anteriormente informado, esta investigación tiene como objetivo evaluar la variabilidad morfológica y fisiológica en frutos y plántulas de uva de playa provenientes de tres ecosistemas costeros de Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

La colección de frutos frescos de *C. uvifera* fueron colectadas en tres localidades representativas de áreas costeras del norte y del sur de Cuba, sobre la base de que estuvieran establecidas poblaciones de esta especie durante los meses de julio a septiembre del año 2017. Las localidades y características donde se realizaron las colectas fueron: Playa Las Coloradas, Playa Guardalavaca y Cayo Coco (Tabla 1). En cada localidad se seleccionaron 20 árboles, en cada uno de ellos fueron coleccionados todos los frutos maduros sin daños o malformaciones desde diferentes posiciones y se colocaron en bolsas de plástico etiquetadas.

Tabla 1. Localización geográfica, precipitación anual, temperatura media anual, pH y conductividad eléctrica de las localidades estudiadas

Localidades (Playas)	Latitud (N)	Longitud (W)	Precipitación anual (mm)	Temperatura media anual (°C)	pH	Ce (dS m ⁻¹)
Cayo Coco	22°32'10,06"	78°21'19,44"	855	25,6	8,75	7,84
Las Coloradas	19°56'00"	77°41'00"	942	27	8,91	7,62
Guardalavaca	21°07'30"	75°49'44"	974	26,4	8,54	7,31

A los frutos frescos se les determinó el largo (mm) y el diámetro (mm) y fueron pesados con una balanza electrónica analítica (Denver Instrument) para determinar su masa. Posteriormente se separó la pulpa de las semillas, las que se lavaron y secaron al aire libre, por cinco días, a la sombra, para proceder a su pesaje y además se les determinó el largo (mm) y el diámetro (mm).

Preparación de los experimentos

Después de secado los frutos, se procedió a escarificar las semillas, para eliminar la dormancia, sumergiéndolas en ácido sulfúrico al 95 % por tres horas y enjuagadas con agua destilada. Las semillas se colocaron para germinar en recipientes plásticos (50 x 75 cm) con un 1 kg de arena de río estéril, en una cámara de crecimiento SNIJDER (temperatura día/noche 35/25 °C, humedad relativa 80 % y fotoperiodo de 12 horas luz). Las semillas se colocaron en recipientes durante seis semanas, siguiendo un arreglo completamente aleatorizado con 40 repeticiones (una semilla por repetición) por tratamiento (localidad).

Cada recipiente fue removido una vez a la semana y fueron irrigados dos veces por semana con la solución nutritiva y una vez a la semana con agua normal. La solución nutritiva que se utilizó fue elaborada con la siguiente composición en ppm: 4,28 K, 15,67 Na, 6,36 Ca, 4,99 Mg, 1,26 NH₄, 2,75 NO₃ – (H₂O-extractable), 0,12 Olsen-P. pH (H₂O) 8,41, pH (KCl) 7,2, sales totales 0,11 g l⁻¹ y conductividad eléctrica 0,036 mScm⁻¹ ⁽⁸⁾.

A las seis semanas se midió la fluorescencia de la clorofila (Fv/Fm), fue medida con un fluorímetro (Handy chlorophyll fluorometer). Las mediciones fueron tomadas en la mañana (10:00 am). Dos lecturas fueron realizadas en cada una de las hojas totalmente expandidas y expuestas a la luz. Posteriormente se tomaron todas las hojas de las plántulas de cada recipiente para determinar el área foliar (cm²), usando un medidor de área foliar (Área Meter AM 350). El área foliar específica (cm².g⁻¹) fue calculada utilizando la fórmula:

$$\text{Área foliar específica} = \text{Área foliar (cm}^2\text{)} / \text{masa seca (g)}$$

Posterior a estas mediciones fueron cosechadas las plántulas y separados los tallos de las raíces, para medir la altura del tallo (cm) y la longitud de las raíces (cm). Las muestras foliares y de raíces fueron colocadas en la estufa (Mammert) por 48 horas a 80 °C para posteriormente determinar la masa seca de los tallos (g) y de la raíz (g), utilizando una balanza analítica con una resolución de ± 0,000 g.

El contenido de agua en las hojas (%) fue determinado mediante la ecuación ⁽⁹⁾:

$$\text{Contenido de agua en las hojas} = 100 * (\text{masa fresca (g)} - \text{masa seca (g)}) / \text{masa fresca (g)}$$

Análisis estadísticos

Se empleó un diseño completamente aleatorizado y se utilizó la prueba de ANOVA y la prueba de Tukey para evaluar si existieron diferencias significativas entre semillas y plántulas de las diferentes localidades estudiadas. Se calculó las correlaciones entre todos los indicadores evaluados usando el rango de correlación de Spearman. Todos los datos fueron procesados con el paquete Statistic para Windows, versión 10⁽¹⁰⁾.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variaciones en la morfología de los frutos

Se encontraron diferencias significativas entre las tres localidades estudiadas en los indicadores morfológicos de los frutos evaluados. Los frutos provenientes de Guardalavaca mostraron los mayores valores de peso, diámetro y largo del fruto y de peso de la pulpa. Las semillas de la localidad Las Coloradas fueron las que mostraron los menores valores en los indicadores evaluados en los frutos (Tabla 2).

Tabla 2. Características de los frutos de *C. uvifera* provenientes de tres localidades costeras de Cuba

Localidades (Playas)	Masa del fruto (g)	Diámetro del fruto (mm)	Largo del fruto (mm)	Diámetro de la semilla (mm)	Masa de la semilla (g)	Largo de la semilla (mm)	Masa de la pulpa (g)
Cayo Coco	2,47 b	15,40b	17,30 b	10,45 a	0,52 a	17,0 a	1,94 b
Guardalavaca	3,38 a	17,30 a	19,30 a	9,90 b	0,45 b	15,6 b	2,90 a
Las Coloradas	2,30 c	11,80 c	16,30 c	10,20 b	0,49 b	15,9 b	1,80 b
ESx	0,31	0,28	0,71	0,68	0,82	0,22	0,64

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes al aplicar la Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). Leyenda: ESx: Error estándar de la media

Los frutos procedentes de la localidad Cayo Coco mostraron los mayores valores de diámetro, masa y largo de la semilla, no existiendo diferencias significativas entre las semillas procedentes de las localidades Guardalavaca y Las Coloradas (Tabla 2). Como se puede observar los frutos de uva de playa, provenientes de Guardalavaca, son de mayor tamaño y contienen mayor cantidad de pulpa, pero tienen semillas pequeñas, respecto a las de la localidad Cayo Coco y no difieren estadísticamente en cuanto a las características de sus semillas con los frutos de la localidad Las Coloradas (Tabla 2).

Es necesario señalar que en la literatura internacional consultada no existen reportes acerca de la comparación de esta especie en diferentes localidades, solamente se limitan a describir las

características de la especie. Los valores obtenidos están en el rango de los informados para la misma especie en frutos recolectados en Puerto Rico ⁽²⁾; no obstante, se observó que las semillas tienen menor masa y menor diámetro del fruto, así como menor masa de la semilla. Se reporta para esta especie valores de largo de semilla de 10 mm en Hawai, inferiores a las recolectadas en esta investigación ⁽¹¹⁾.

Los datos climáticos de las localidades estudiadas muestran que la localidad de Guardalavaca presenta valores elevados de precipitaciones y menores de temperaturas, así como una menor alcalinidad de los suelos. Estos resultados indican que la variabilidad fenotípica que muestra la especie pudiera estar influenciada por las condiciones edafoclimáticas que presenta la zona geográfica donde se desarrolla.

Variaciones en la morfología de las plántulas.

Los indicadores altura del tallo y longitud de la raíz indicaron diferencias significativas entre las tres localidades estudiadas. Las plántulas de frutos procedentes de Cayo Coco mostraron valores superiores; mientras que, las de Las Coloradas fueron las que mostraron los menores valores en los indicadores de crecimiento evaluados (Tabla 3).

Tabla 3. Características morfológicas de las plántulas de *C. uvifera* provenientes de tres localidades de Cuba

Localidades (Playas)	Altura del tallo (cm)	Longitud de la raíz (cm)	Masa seca del tallo (g)	Masa seca de la raíz (g)
Cayo Coco	15,620 a	10,200 a	0,526 a	0,120 a
Guardalavaca	14,920 b	9,800 b	0,510 b	0,080 b
Las Coloradas	13,380 c	8,860 c	0,490 b	0,070 b
ESx	0,150	0,19	0,004	0,002

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes al aplicar la Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). Leyenda: ESx: Error estándar de la media

Las plántulas de *C. uvifera* provenientes de Cayo Coco mostraron los mayores valores de masa seca en el tallo y la raíz, las plántulas de la localidad de Guardalavaca no mostraron diferencias significativas con las plántulas de la localidad las Coloradas para la masa seca del tallo y la masa seca de la raíz (Tabla 3).

Aunque no se cuentan con reportes para esta especie, otros autores señalan la variabilidad genética dentro una misma especie arbórea, encontrándose diferencias en indicadores morfológicos en la especie *Olea europaea* L. proveniente de cuatro regiones ⁽¹²⁾, y en plántulas de *Adansonia digitata* L. (baobab) con semillas procedentes del sur y del sudeste de África ⁽¹³⁾.

Los valores de la precipitación anual de la localidad de Cayo Coco son inferiores a los de las otras localidades, sin embargo, se obtienen en las plántulas procedentes de semillas de esta localidad los mejores valores en los indicadores morfológicos evaluados. Esto podría sugerir la existencia de variabilidad genética dentro la especie; no obstante, diversos autores plantean la hipótesis que varias especies de árboles de hoja ancha pueden desarrollar mayores compuestos en sus hojas cuando están en condiciones estresantes ⁽¹³⁻¹⁵⁾, lo cual justificaría el criterio de que la variabilidad fenotípica que muestra la especie está influenciada por las condiciones edafoclimáticas que presenta la zona geográfica donde se desarrolla.

Variaciones en indicadores ecofisiológicos

La misma tendencia de los indicadores morfológicos donde los resultados de las plántulas de uva de playa de Cayo Coco resultaron estadísticamente superiores en comparación con el resto de las localidades se presentaron al evaluar los indicadores fisiológicos excepto en el indicador de área foliar (Tabla 4)

Tabla 4. Características fisiológicas de las plántulas de *C. uvifera* provenientes de tres localidades de Cuba

Localidades (Playas)	Contenido de agua en las hojas (%)	Contenido de agua en las raíces (%)	(Fv/Fm)	Área foliar específica (cm ² ·g ⁻¹)	Área foliar (cm ²)
Cayo Coco	81,12 a	79,22 a	0,84 a	253,22 a	127,15 a
Guardalavaca	79,32 b	75,62 b	0,79 b	252,27 a	125,25 a
Las Coloradas	77,72 c	72,72 c	0,74 b	249,28 b	122,22 a
ESx	1,25	1,47	0,08	2,24	1,41

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes al aplicar la Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). Leyenda: ESx: Error estándar de la media

Al analizar las correlaciones establecidas entre las características de los frutos y el resto de los indicadores se destacan las correlaciones significativas y negativas de la masa y del diámetro del fruto con la acumulación de biomasa y el contenido de agua de la raíz y con el área foliar. Este aspecto es importante al momento de seleccionar ecotipos de esta especie a través de frutos para posibles programas de reforestación de dunas costeras o para la producción de fitofármacos u otros productos naturales provenientes de esta parte de la planta. La masa de la semilla se correlacionó estadísticamente de manera significativa y positiva con la acumulación de agua en las hojas y el área foliar específica. En tanto el largo de la semilla se correlacionó de manera positiva y significativa con la altura del tallo, indicador este a su vez correlacionado de manera

fuerte y positivamente con los indicadores fisiológicos estudiados, lo cual denota la relación existente entre los frutos con menor masa, pero de semillas más largas presentes en las zonas más secas que a su vez producen plántulas de mayor altura y de mayor producción de biomasa radicular, lo cual les permite sobrevivir en condiciones de sequía (Tabla 5).

La información obtenida en las correlaciones estudiadas sugiere que, las plantas de uva de playa que logran semillas de mayor longitud y masa fueron capaces de acumular mayor cantidad de agua en sus tejidos y mayor biomasa. Si esto lo relacionamos con que fueron las plántulas provenientes de la localidad con menos niveles de precipitaciones, pudiéramos estar ante un mecanismo adaptativo para tolerar estas condiciones estresantes y que permiten, en condiciones normales, lograr valores superiores a las de otras localidades con menos problemas de sequía. Esto demuestra la hipótesis de que las plantas procedentes de zonas con menor pluviometría (Tabla 1) tienen relativamente almacenada en sus raíces mayor contenido de agua y en su parte aérea en comparación con las procedentes de zonas con mayor humedad (Tabla 4). Esto podría ayudar a las plántulas de ambientes secos a sobrevivir períodos de estrés por sequía, que son propensos a incrementarse progresivamente.

Tabla 5. Coeficientes de correlación para los indicadores morfológicos y fisiológicos evaluados en las plántulas de *C. uvifera* provenientes de tres localidades.

	MF	DF	LF	DS	MS	LS	MP	LT	LR	MST	MSR	CAH	CAR	Fv/Fm	AFE	AF
MF	1,00															
DF	0,80**	1,00														
LF	0,45	0,49	1,00													
DS	-0,71*	-0,86**	-0,43	1,00												
MS	-0,42	-0,48	-0,26	0,57*	1,00											
LS	0,39	0,45	0,15	-0,70*	-0,86**	1,00										
MP	0,87**	0,93**	0,45	-0,92**	-0,42	0,53*	1,00									
LT	-0,10	-0,29	-0,26	0,05	0,65*	0,59*	-0,14	1,00								
LR	-0,22	-0,33	-0,10	0,49	0,67	0,01	-0,52*	0,29	1,00							
MST	-0,13	-0,20	-0,16	0,48	0,58*	-0,02	-0,41	0,28	0,92**	1,00						
MSR	-0,57*	-0,51*	-0,38	0,15	-0,21	0,45	-0,40	0,77*	0,16	0,04	1,00					
CAH	-0,47	-0,37	-0,16	0,21	0,56*	0,38	-0,47	0,52*	0,69*	0,58*	0,66*	1,00				
CAR	-0,54*	-0,35	-0,26	0,15	-0,48	0,49	-0,42	0,63*	0,51*	0,39	0,86**	0,90**	1,00			
Fv/Fm	-0,42	-0,48	-0,34	0,23	-0,35	0,49	-0,42	0,91**	0,46	0,59*	0,90**	0,71**	0,87**	1,00		
AFE	-0,25	-0,31	-0,15	0,29	0,57*	0,39	-0,42	0,64*	0,18	0,78*	0,53*	0,83**	0,79**	0,79**	1,00	
AF	-0,59*	-0,36	-0,38	0,21	-0,40	0,36	-0,46	0,69*	0,47	0,69*	0,81**	0,93**	0,99**	0,80**	0,77*	1,00

**Significación al $p < 0,01$.

*Significación al $p < 0,05$.

MF: Masa del fruto, DF: Diámetro del fruto, LF: Largo del fruto, DS: Diámetro de la semilla, MS: Masa de la semilla, LS: Largo de la semilla, MP: Masa de la pulpa, LT: Altura del tallo, LR: Longitud de la raíz, MST: Masa seca aérea, MSR: Masa seca de la raíz, CAH: Contenido de agua en las hojas, CAR: Contenido de agua en las raíces, Fv/Fm: Fluorescencia de la clorofila, AFE: Área foliar específica, AF: Área foliar

Los resultados demuestran la variabilidad fenotípica presente dentro de la misma especie al observarse diferencias en los indicadores morfológicos y fisiológicos evaluados en plántulas de uva de playa provenientes de tres localidades, lo que da una medida de la influencia del ambiente en la morfología de los frutos y que se refleja posteriormente en el crecimiento de las plántulas en iguales condiciones de crecimiento.

Otras investigaciones similares, pero con otras especies arbóreas, señalan que en plántulas de *Jatropha curvas*, bajo condiciones de sequía, producen nuevas hojas usando el agua almacenada en los tallos ⁽¹⁶⁾. En tanto plántulas de baobab pueden producir hojas usando agua almacenada, ya sea en el hipocótilo o la raíz principal ⁽¹⁷⁾. Al parecer esta adaptación se encuentra también en las plántulas de uva de playa, lo que provoca la diferenciación en el comportamiento de las plántulas, de acuerdo a las características del ecosistema donde se desarrollan, quedaría para futuras investigaciones, evaluar a través de técnicas de biología molecular si existen diferencias genéticas que nos permita ajustar mejor nuestras hipótesis acerca de estas respuestas morfológicas y fisiológicas.

CONCLUSIONES

- Existe variabilidad en las características de los frutos y el crecimiento de las plántulas de uva de playa provenientes de tres localidades diferentes. Se presenta una relación directa entre los parámetros de las semillas e indicadores morfológicos y fisiológicos, al parecer las semillas procedentes de la localidad seca producen mayor biomasa y acumulación de agua en sus tejidos.
- La capacidad que tienen las semillas provenientes de la localidad de menores valores de precipitaciones acumuladas (Playa Cayo Coco) de mostrar los mayores valores de longitud y masa y en fase de plántulas de acumular mayor cantidad de agua en sus tejidos y mayor biomasa podría explicarse como un mecanismo adaptativo para tolerar las condiciones estresantes.

RECOMENDACIONES

Se recomiendan ensayos para estudiar con herramientas de biología molecular si existen diferencias genéticas entre la misma especie, además de los mecanismos adaptativos de las plántulas de uva de playa a las condiciones estresantes donde se desarrollan que puede provocar las diferencias fenotípicas encontradas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sene S. Analyse de la diversité des symbioses ectomycorhiziennes du *Coccoloba uvifera* (L) L. en zones d'origine et en zones d'introduction [Internet] [These de Doctorat]. [France]: Universite Cheikh Anta Diop De Dakar; 2015. 159 p. Available from: http://isyeb.mnhn.fr/sites/isyeb/files/documents/manuscrit_the_se_de_doctorat-seynabou_sene.pdf
2. Nuñez MA, Dickie IA. Invasive belowground mutualists of woody plants. *Biological Invasions*. 2014;16(3):645–61. doi:10.1007/s10530-013-0612-y
3. Séne S, Avril R, Chaintreuil C, Geoffroy A, Ndiaye C, Diédhiou AG, et al. Ectomycorrhizal fungal communities of *Coccoloba uvifera* L. mature trees and seedlings in the neotropical coastal forests of Guadeloupe (Lesser Antilles). *Mycorrhiza*. 2015;25(7):547–59. doi:10.1007/s00572-015-0633-8
4. Dickie IA, Bufford JL, Cobb RC, Desprez-Loustau M-L, Grelet G, Hulme PE, et al. The emerging science of linked plant-fungal invasions. *New Phytologist*. 2017;215(4):1314–32. doi:10.1111/nph.14657
5. Moeller HV, Dickie IA, Peltzer DA, Fukami T. Mycorrhizal co-invasion and novel interactions depend on neighborhood context. *Ecology*. 2015;96(9):2336–47.
6. Noa IC. *Coccoloba howardii* (*Polygonaceae*), a new species from Cuba. *Willdenowia*. 2012;42(1):95–8. doi:10.3372/wi.42.42112
7. Pölme S, Bahram M, Kõljalg U, Tedersoo L. Biogeography and specificity of ectomycorrhizal fungi *Coccoloba uvifera*. In: *Biogeography of Mycorrhizal Symbiosis* [Internet]. Suiza: Springer, Cham; 2017 [cited 13/02/2019]. p. 345–59. (Ecological Studies; vol. 230). Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-56363-3_16
8. Séne S, Selosse M-A, Forget M, Lambourdière J, Cissé K, Diédhiou AG, et al. A pantropically introduced tree is followed by specific ectomycorrhizal symbionts due to pseudo-vertical transmission. *The ISME Journal*. 2018;12(7):1806–16. doi:10.1038/s41396-018-0088-y
9. Bandou E, Lebailly F, Muller F, Dulormne M, Toribio A, Chabrol J, et al. The ectomycorrhizal fungus *Scleroderma bermudense* alleviates salt stress in seagrape (*Coccoloba uvifera* L.) seedlings. *Mycorrhiza*. 2006;16(8):559–65. doi:10.1007/s00572-006-0073-6
10. STATISTICA Software. StatSoft (data analysis software system) [Internet]. Version 12. Tulsa, USA; 2011 [cited 09/07/2018]. Available from: <https://statisticasoftware.wordpress.com/2013/05/15/statsoft-releases-version-12-of-statistica-software/>

11. Nageswara Rao RC, Talwar HS, Wright GC. Rapid assessment of specific leaf area and leaf nitrogen in peanut (*Arachis hypogaea* L.) using a chlorophyll meter. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 2001;186(3):175–82. doi:10.1046/j.1439-037X.2001.00472.x
12. Dickie IA, Bennett BM, Burrows LE, Nuñez MA, Peltzer DA, Porté A, et al. Conflicting values: ecosystem services and invasive tree management. *Biological Invasions*. 2014;16(3):705–19. doi:10.1007/s10530-013-0609-6
13. Sorkheh K, Khaleghi E. Molecular characterization of genetic variability and structure of olive (*Olea europaea* L.) germplasm collection analyzed by agromorphological traits and microsatellite markers. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 2016;40(4):583–96.
14. Cuni Sanchez A, De Smedt S, Haq N, Samson R. Variation in baobab seedling morphology and its implications for selecting superior planting material. *Scientia Horticulturae*. 2011;130(1):109–17. doi:10.1016/j.scienta.2011.06.021
15. Bâ AM, McGuire KL, Diédhiou AG. Ectomycorrhizal symbioses in tropical and neotropical forests. Edición: 1. Boca Raton, USA: CRC Press; 2014. 300 p.
16. Vincenot L, Selosse M-A. Population biology and ecology of ectomycorrhizal fungi. In: *Biogeography of Mycorrhizal Symbiosis* [Internet]. Suiza: Springer, Cham; 2017 [cited 13/02/2019]. p. 39–59. (Ecological Studies; vol. 230). Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-56363-3_2
17. Maes WH, Achten WMJ, Reubens B, Raes D, Samson R, Muys B. Plant–water relationships and growth strategies of *Jatropha curcas* L. seedlings under different levels of drought stress. *Journal of Arid Environments*. 2009;73(10):877–84. doi:10.1016/j.jaridenv.2009.04.013

Variability of fruits and seedlings of *Coccoloba uvifera* L. in coastal ecosystems of Cuba

Raúl C. López-Sánchez^{1*}

Mijail Bullain-Galardis¹

Juan Torres-Rodriguez¹

Ernesto Gómez-Padilla¹

Raúl Campos-Posada²

Gloria Campos-Posada²

Bettina Eichler- Löbermann³

Ludovic Pruneau⁴

Amadou Ba⁴

¹Universidad de Granma, carretera Manzanillo, km 17, Bayamo 85100, Granma, Cuba

²Universidad Autónoma de Coahuila, Barranquilla sin número, Colonia Guadalupe, Monclova, Coahuila, C. P. 25730, México

³Departamento de Ciencias de las Plantas, Facultad de Agricultura, Universidad de Rostock. Justus-von Liebig-Weg 6 18059 Rostock, Alemania

⁴Université des Antilles 97159, Pointe-à-Pitre, Guadalupe, Francia

* Author for correspondence. rlopezs@udg.co.cu

ABSTRACT

Fruit of the seagrape (*Coccoloba uvifera* L.), in coastal areas north and south of Cuba, in three provenances were collected: Guardalavaca, Cayo Coco and las Coloradas with the objective of evaluating the morphological and physiological variability in fruits and seedlings of this species. The mass, diameter and length of the fruits and seeds were evaluated. The collected seeds were sown under nursery conditions, six months later morphological characteristics of the seedlings were evaluated: stem height, root length, stem and root dry mass, as well as physiological characteristics: water content in the leaves and the roots, fluorescence of chlorophyll, leaf area and specific leaf area. The correlations between all the evaluated indicators were calculated. The results showed significant variations in the characteristics of the fruits and the growth of the sea grape seedlings from the provenances studied. The fruits of

the Guardalavaca provenance showed larger size and the seeds of the Cayo Coco locality were those of greater size and mass. In the case of the seedlings, those of Cayo Coco showed the highest values of biomass accumulation in the aerial part, in the root, and of water accumulation in their tissues. A direct relationship between the parameters of the seeds and morphological and physiological indicators were found. Molecular biology assays are recommended to study if there are genetic differences in the same species, as well as to identify the adaptive mechanisms of the seedlings to the stressful conditions where they develop.

Key words: diversity, growth, morphology, physiology, sea grape

INTRODUCTION

Coccoloba uvifera (L.), commonly known as sea grapes, is a small tree or shrub with ramifications at a low level, which grows up to 15 m in height. It has thick and smooth branches and a robust trunk that reaches up to 70 cm in diameter. It is common in coastal dunes and rocky coasts within its natural distribution in the Caribbean. It is recognized easily by its large, thick and almost circular leaves and bunches in the form of edible grapes. It can be found in Florida, Mexico, the Caribbean and in Central America even in South America ⁽¹⁾ and preferably throughout the coastal coast forming an important part of the coastal vegetation ⁽²⁾. Its tolerance to saline soils and sea spray makes it an excellent native species on the coasts as barriers against the wind and for the recovery of coastal dunes ⁽³⁾. The sea grape has perspectives due to the use that can be given to it as wood, firewood, as well as the medicinal properties of its leaves and fruits ^(2,4).

In the Cuban flora, 34 species of the *Coccoloba* genus and this has a high level of endemism (25 species) are reported. It is probably why there is a high presence of this in the islands bordering Cuba ⁽⁵⁾, on the other hand, for conservation purposes of the species and restoration programs; the best option is to reproduce it from seed to promote genetic variability ⁽²⁾. Therefore, the domestication of the sea grape is important not only for the protection of coastal ecosystems, but also for use in animal feed, natural medicine and income generation. The domestication of tree species leads to the quantitative characterization of the fruits, their nutritional value, the morphology and the ecophysiology of the native populations ⁽⁶⁾. The use of native tree species is potentially useful in contributing to food security and nutrition ^(6,7).

The distribution of variation between different geographical areas is of great interest for the conservation of biological diversity. This is especially important for species of commercial interest, where genetic diversity constitutes a source of genes that is incorporated into breeding programs both in plants and in animals ⁽²⁾.

The diversity of morphological characters constitutes the backbone of studies on genetic diversity at any of its levels ⁽³⁾. In the case of cultivated species, this type of information has been widely used to discriminate between materials from different geographical regions and has allowed a more efficient management of germplasm banks in large international centers ⁽⁴⁾. These works have also allowed the establishment of genetic relationships between cultivars and local races of different origins and, in addition, allowed to relate the diversity observed with different geographical regions and other elements of the physical environment ⁽⁸⁾.

Taking into account what the previous reported, this research aims to evaluate the morphological and physiological variability in fruits and seedlings of sea grapes from three coastal ecosystems of Cuba.

MATERIALS AND METHODS

The collection of fresh fruits of *C. uvifera* were collected in three representative localities of coastal areas of the north and south of Cuba, on the basis of which populations of this species were established during the months of July to September of the year 2017. Playa Las Coloradas, Guardalavaca Beach and Cayo Coco (Table 1) were the localities where the collections were made. In each locality, 20 trees were selected, and in each all of them, the ripe fruits were collected without damage or malformations from different positions and placed in labeled plastic bags.

Table 1. Geographical location, annual precipitation, average annual temperature, pH and electrical conductivity of the localities studied

Localities (Beaches)	Latitude (N)	Longitude (W)	Annual precipitation (mm)	Average annual temperature (°C)	pH	Ce (dS m ⁻¹)
Cayo Coco	22°32'10,06"	78°21'19,44"	855	25.6	8.75	7.84
Las Coloradas	19°56'00"	77°41'00"	942	27	8.91	7.62
Guardalavaca	21°07'30"	75°49'44"	974	26.4	8.54	7.31

The fresh fruits were determined the length (mm) and the diameter (mm) and were weighed with an electronic analytical balance (Denver Instrument) to determine its mass. Subsequently, the pulp from the seeds was separated which were washed and dried in the open air for five days in the shade for weighing, and in addition, the length (mm) and the diameter (mm) were determined.

Preparation for the experiments

After drying the fruits, we proceeded to scarify the seeds to eliminate the dormancy by immersing them in 95 % sulfuric acid for three hours and rinsing with distilled water. Seeds were placed to germinate in plastic containers (50x75 cm) with 1 kg of sterile river sand in a SNIJDER growth chamber (day/night temperature 35/25 °C, relative humidity 80 % and photoperiod of 12 light hours). The seeds were placed in containers for six weeks, following a completely randomized arrangement with 40 repetitions (one seed per repetition) per treatment (locality).

Each container once a week was removed and they were irrigated twice with the nutrient solution and once a week with normal water. The nutrient solution that was used was elaborated with the following composition in ppm: 4.28 K, 15.67 Na, 6.36 Ca, 4.99 Mg, 1.26 NH₄, 2.75 NO₃ - (H₂O-extractable), 0.12 Olsen-P. pH (H₂O) 8.41, pH (KCl) 7.2, total salts 0.11 g l⁻¹ and electrical conductivity 0.036 mScm⁻¹ ⁽⁸⁾.

At six weeks, chlorophyll fluorescence (Fv / Fm) was measured, measured with a fluorometer (Handy chlorophyll fluorometer). The measurements were taken in the morning (10:00 am). Two readings were made on each of the leaves fully expanded and exposed to light. Afterwards, all the leaves of the seedlings of each container were taken to determine the leaf area (cm²) using a foliar area meter (Area Meter AM 350). The specific leaf area (cm² g⁻¹) was calculated using the formula:

$$\text{Specific leaf area} = \text{Foliar area (cm}^2\text{)} / \text{dry mass (g)}$$

After these measurements, the seedlings were harvested and the stems were separated from the roots, to measure the height of the stem (cm) and the length of the roots (cm). The foliar and root samples were placed in the oven (Memmert) for 48 hours at 80 °C to later determine the dry mass of the stems (g) and the root (g) using an analytical balance with a resolution of ± 0.000 g.

The water content in the leaves (%) was determined by equation ⁽⁹⁾:

$$\text{Water content in the leaves} = 100 * (\text{fresh mass (g)} - \text{dry mass (g)}) / \text{fresh mass (g)}$$

Statistical analysis

A completely randomized design was used and the ANOVA test and the Tukey test were used to evaluate if there were significant differences between seeds and seedlings of the different localities studied. We calculated the correlations between all the indicators evaluated using the Spearman correlation range. All the data was processed with the Statistic for Windows package, version 10 ⁽¹⁰⁾.

RESULTS AND DISCUSSION

Variations in the morphology of fruit

Significant differences were found between the three localities studied in the morphological indicators of the fruits evaluated. The fruits from Guardalavaca showed the highest values of weight, diameter and length of the fruit and weight of the pulp. The seeds of the locality Las Coloradas were the ones that showed the lowest values in the indicators evaluated in the fruits (Table 2).

Tabla 2. Características de los frutos de *C. uvifera* provenientes de tres localidades costeras de Cuba

Localities (Beaches)	Mass of the fruit (g)	Diameter of fruit (mm)	Length of the fruit (mm)	Diameter of the seed (mm)	Mass of the seed (g)	Length of the seed (mm)	Mass of the pulp (g)
Cayo Coco	2.47 b	15.40b	17.30 b	10.45 a	0.52 a	17.0 a	1.94 b
Guardalavaca	3.38 a	17.30 a	19.30 a	9.90 b	0.45 b	15.6 b	2.90 a
Las Coloradas	2.30 c	11.80 c	16.30 c	10.20 b	0.49 b	15.9 b	1.80 b
ESx	0.31	0.28	0.71	0.68	0.82	0.22	0.64

Means with equal letters are not statistically different when applying the Tukey Test ($p \leq 0.05$). ESx: Standard error of the mean

The fruits from the Cayo Coco locality showed the highest values of diameter, mass and length of the seed, there being no significant differences between the seeds from the localities Guardalavaca and Las Coloradas (Table 2). As you can see, the sea grape fruits from Guardalavaca are larger and contain more pulp, but they have small seeds compared to those of the Cayo Coco locality and do not differ statistically in terms of the characteristics of their seeds with the fruits of the locality Las Coloradas (Table 2).

It is necessary to point out that in the international literature consulted there are no reports about the comparison of this species in different localities, they are limited to describing the characteristics of the species. The values obtained are in the range of those reported for the same species in fruits harvested in Puerto Rico ⁽²⁾; nevertheless, it was observed that the seeds have less mass and less diameter of the fruit, as well as less seed mass. Seed length values of 10 mm are reported, in Hawaii for this species, lower than those collected in this investigation ⁽¹¹⁾.

The climatic data of the studied localities show that the locality of Guardalavaca presents high values of precipitations and lower temperatures, as well as a lower alkalinity of the soils, These results indicate that the phenotypic variability that shows the species could be influenced by the edaphoclimatic conditions that presents the geographical area where it develops.

Variations in the morphology of the seedlings

The stem height and root length indicators indicated significant differences between the three locations studied. Seedlings of fruits from Cayo Coco showed higher values; while those of Las Coloradas were the ones that showed the lowest values in the growth indicators evaluated. (Table 3).

Table 3. Morphological characteristics of *C. uvifera* seedlings from three locations in Cuba.

Localities (Beaches)	Height of stem (cm)	Length of the root (cm)	Dry mass of stem (g)	Dry mass of root (g)
Cayo Coco	15.620 a	10.200 a	0.526 a	0.120 a
Guardalavaca	14.920 b	9.800 b	0.510 b	0.080 b
Las Coloradas	13.380 c	8.860 c	0.490 b	0.070 b
ESx	0.150	0.19	0.004	0.002

Means with equal letters are not statistically different when applying the Tukey Test ($p \leq 0.05$). ESx: Standard error of the mean

The seedlings of *C. uvifera* from Cayo Coco showed the highest values of dry mass in the stem and the root. the seedlings of the locality of Guardalavaca did not show significant differences with the seedlings of the locality the Coloradas for the dry mass of the stem and the dry mass of the root (Table 3).

Although there are no reports for this species. other authors point out the genetic variability within the same arboreal species. finding differences in morphological indicators in the species *Olea europaea* L. from four regions ⁽¹²⁾. and in seedlings of *Adansonia digitata* L. (baobab) with seeds from southern and southeastern Africa ⁽¹³⁾.

The values of the annual precipitation of of Cayo Coco town are lower than other localities; however. the best values in the morphological indicators evaluated are obtained in the seedlings from seeds of this locality. This could suggest the existence of genetic variability within the species. However. several authors hypothesize that several species of broadleaf trees can develop larger compounds in their leaves when they are in stressful conditions ⁽¹³⁻¹⁵⁾. which would justify the criterion that the phenotypic variability shown by the species is influenced due to the edaphoclimatic conditions presented by the geographical area where it is developed.

Variations in ecophysiological indicators

The same trend of the morphological indicators where the results of the sea grape seedlings of Cayo Coco were statistically superior in comparison with the rest of the localities when evaluating the physiological indicators except in the indicator of leaf area were presented (Table 4).

Table 4. Physiological characteristics of *C. uvifera* seedlings from three locations in Cuba

Localities (beaches)	Water content in leaves (%)	Water content in roots (%)	(Fv/Fm)	Specific foliar area (cm ⁻² ·g ⁻¹)	Leaf area (cm ²)
Cayo Coco	81.12 a	79.22 a	0.84 a	253.22 a	127.15 a
Guardalavaca	79.32 b	75.62 b	0.79 b	252.27 a	125.25 a
Las Coloradas	77.72 c	72.72 c	0.74 b	249.28 b	122.22 a
ESx	1.25	1.47	0.08	2.24	1.41

Means with equal letters are not statistically different when applying the Tukey Test ($p \leq 0.05$). ESx: Standard error of the mean

When analyzing the correlations established between the characteristics of the fruits and the rest of the indicators, the significant and negative correlations of the mass and diameter of the fruit stand out with the accumulation of biomass and the water content of the root and with the foliar area. This aspect is important when selecting ecotypes of this species through fruits for possible programs of reforestation of coastal dunes or for the production of phytopharmaceuticals or other natural products from this part of the plant. The mass of the seed correlated statistically significantly and positively with the accumulation of water in the leaves and the specific leaf area.

Regarding the length of the seed, it correlated in a positive and significant way with the height of the stem, this indicator that in turn correlates strongly and positively with the physiological indicators studied. This denotes the relationship between fruits with less mass, but longer seeds present in the drier areas, which in turn produce taller seedlings, and higher production of root biomass that allows them to survive in drought conditions (Table 5).

The information obtained in the correlations studied suggests that sea grape plants that achieve seeds of greater length and mass were able to accumulate more water in their tissues and higher biomass. If we relate this to what were the seedlings from the locality with lower levels of precipitation, it would be faced with an adaptive mechanism to tolerate these stressful conditions and that allow under normal conditions to achieve higher values than those of other localities with less drought problems. This demonstrates the hypothesis that plants from areas with lower rainfall (Table 1) have relatively higher root and water content in their roots compared to those from areas with higher rainfall (Table 4). This could help seedlings from dry environments survive periods of drought stress, which are prone to progressively increase.

Table 5. Correlation coefficients for the morphological and physiological indicators evaluated in the *C. uvifera* seedlings from three locations.

	MF	DF	LF	DS	MS	LS	MP	LT	LR	MST	MSR	CAH	CAR	Fv/Fm	AFE	AF
MF	1.00															
DF	0.80**	1.00														
LF	0.45	0.49	1.00													
DS	-0.71*	-0.86**	-0.43	1.00												
MS	-0.42	-0.48	-0.26	0.57*	1.00											
LS	0.39	0.45	0.15	-0.70*	-0.86**	1.00										
MP	0.87**	0.93**	0.45	-0.92**	-0.42	0.53*	1.00									
LT	-0.10	-0.29	-0.26	0.05	0.65*	0.59*	-0.14	1.00								
LR	-0.22	-0.33	-0.10	0.49	0.67	0.01	-0.52*	0.29	1.00							
MST	-0.13	-0.20	-0.16	0.48	0.58*	-0.02	-0.41	0.28	0.92**	1.00						
MSR	-0.57*	-0.51*	-0.38	0.15	-0.21	0.45	-0.40	0.77*	0.16	0.04	1.00					
CAH	-0.47	-0.37	-0.16	0.21	0.56*	0.38	-0.47	0.52*	0.69*	0.58*	0.66*	1.00				
CAR	-0.54*	-0.35	-0.26	0.15	-0.48	0.49	-0.42	0.63*	0.51*	0.39	0.86**	0.90**	1.00			
Fv/Fm	-0.42	-0.48	-0.34	0.23	-0.35	0.49	-0.42	0.91**	0.46	0.59*	0.90**	0.71**	0.87**	1.00		
AFE	-0.25	-0.31	-0.15	0.29	0.57*	0.39	-0.42	0.64*	0.18	0.78*	0.53*	0.83**	0.79**	0.79**	1.00	
AF	-0.59*	-0.36	-0.38	0.21	-0.40	0.36	-0.46	0.69*	0.47	0.69*	0.81**	0.93**	0.99**	0.80**	0.77*	1.00

**Significance to $p < 0.01$.

* Significance to $p < 0.05$.

MF: Mass of fruit. DF: Diameter of fruit. LF: Length of fruit. DS: Diameter of seed. MS: Mass of seed. LS: Length of seed. MP: Mass of pulp. LT: Height of stem. LR: Length of the root. MST: Aerial dry mass. MSR: Dry mass of root. CAH: Water content in leaves. CAR: water content of roots. Fv/Fm: Fluorescence of chlorophyll. AFE: Specific aerial mass. AF: Foliar area

The results demonstrate the phenotypic variability present within the same species when differences are observed in the morphological and physiological indicators evaluated in sea grape seedlings from three locations. These give a measure of the influence of the environment on the morphology of the fruits and that is reflected subsequently in the growth of the seedlings in the same growing conditions.

Other similar investigations, but with other tree species, indicate that in curved *Jatropha* seedlings, under drought conditions, they produce new leaves using the water stored in the stems ⁽¹⁶⁾. While baobab seedlings can produce leaves, using stored water, in either the hypocotyl or the main root ⁽¹⁷⁾.

Everything seems to indicate that this adaptation also appears in the seedlings of sea grapes, which causes the differentiation in the behavior of the seedlings according to the characteristics of the ecosystem where they are developed. So for future investigations it would be evaluated through molecular biology techniques, if there were genetic differences that allow us to better adjust our hypotheses about these morphological and physiological responses.

CONCLUSIONS

- There is variability in the characteristics of the fruits and the growth of the sea grape seedlings from three different locations. There is a direct relationship between the parameters of the seeds and morphological and physiological indicators. apparently the seeds from the dry place produce more biomass and water accumulation in their tissues.
- The capacity of the seeds from the locality of lower cumulative rainfall values (Playa Cayo Coco) to show the highest values of length and mass and in the seedling phase of accumulating more water in their tissues and higher biomass is explained as an adaptive mechanism to tolerate stressful conditions.

RECOMMENDATIONS

Trials. to study with molecular biology tools if there are genetic differences between the same species. in addition to the adaptive mechanisms of the sea grape seedlings to the stressful conditions where they develop that can cause the phenotypic differences found are recommended.