

Université de Montréal

**Caractérisation et délimitation des sous-espèces de
Gesneria viridiflora (Gesneriaceae) dans les Antilles**

par
François Lambert

Département de sciences biologiques
Faculté des arts et des sciences

Mémoire présenté à la Faculté des arts et des sciences
en vue de l'obtention du grade de M.Sc.
en sciences biologiques

janvier 2016

© François Lambert, 2016

Résumé

Une taxonomie révisée et une connaissance des limites d'espèces demeurent toujours importantes dans les points chauds en biodiversité comme les Antilles où de nombreuses espèces endémiques sont retrouvées. Des limites d'espèces divergentes impliquent un différent nombre d'espèces retrouvées dans un écosystème, ce qui peut exercer une influence sur les décisions prises face aux enjeux de conservation. Les genres *Gesneria* et *Rhytidophyllum* qui forment les principaux représentants de la famille des Gesneriaceae dans les Antilles comprennent plusieurs taxons aux limites d'espèces ambiguës et quelques espèces qui ont des sous-espèces reconnues. C'est le cas de *Gesneria viridiflora* (Decne.) Kuntze qui comprend quatre sous-espèces géographiquement isolées et qui présentent des caractères végétatifs et reproducteurs similaires et variables. Une délimitation d'espèces approfondie de ce complexe d'espèce est effectuée ici à partir d'une approche de taxonomie intégrative considérant des données morphologiques, génétiques et bioclimatiques. Les données morphologiques quantitatives et qualitatives obtenues à partir de spécimens d'herbier sont utilisées pour délimiter des groupes morphologiques à l'aide d'une analyse en coordonnées principales. Ces groupes sont ensuite testés à l'aide de séquences d'ADN de quatre régions nucléaires en utilisant une méthode bayésienne basée sur la théorie de la coalescence. Finalement, les occurrences et les valeurs de variables de température et de précipitation qui y prévalent sont utilisées dans une analyse en composantes principales bioclimatique pour comparer les groupes délimités morphologiquement et génétiquement. Les résultats de l'analyse morphologique multivariée supportent la distinction entre les groupes formés par les sous-espèces actuellement reconnues

de *G. viridiflora*. Les résultats, incluant des données génétiques, suggèrent une distinction jusqu'ici insoupçonnée des populations du Massif de la Hotte au sud-ouest d'Haïti qui sont génétiquement plus rapprochées des populations de Cuba que de celles d'Hispaniola. Bioclimatiquement, les groupes délimités par les analyses morphologiques et génétiques sont distincts. L'approche de taxonomie intégrative a permis de distinguer cinq espèces distinctes plutôt que les quatre sous-espèces acceptées jusqu'à aujourd'hui. Ces espèces sont : *G. acrochordonanthe*, *G. quisqueyana*, *G. sintenisii*, *G. sylvicola* et *G. viridiflora*. Une carte de distribution géographique, un tableau de la nouvelle taxonomie applicable et une clé d'identification des espèces sont présentés. La nouvelle taxonomie déterminée dans cette étude démontre un endémisme insoupçonné dans plusieurs régions du point chaud en biodiversité des Antilles et souligne l'importance d'investiguer les limites d'espèces dans les groupes diversifiés comprenant des taxons aux limites d'espèces incomprises.

Mots-clés : taxonomie, délimitation d'espèces, complexe d'espèces, taxonomie intégrative, morphologie, génétique, bioclimatique, analyse en composantes principales, analyses en coordonnées principales, phylogénétique et phylogéographie bayésiennes, Gesneriaceae, *Gesneria viridiflora*, Antilles.

Abstract

An accurate taxonomy and knowledge of species limits is of great importance in endemic species-rich biodiversity hotspots like the Caribbean. Indeed, conflicting species limits can alter biodiversity estimates and influence the decisions taken on conservation issues. The genera *Gesneria* and *Rhytidophyllum* constitute the main representatives of the Caribbean Gesneriaceae and comprise a few species with unclear boundaries as well as species having several recognized subspecies. *Gesneria viridiflora* (Decne.) Kuntze is a good example of the latter and consists of four geographically isolated subspecies that possess similar but variable vegetative and reproductive characters. We conducted a thorough investigation of species delimitation in this species complex using an integrative taxonomic approach that includes morphology, genetics and bioclimatic data. Qualitative and quantitative morphological data obtained from herbarium specimens were used to circumscribe morphologically distinct groups using a principal coordinates analysis. These groups were then tested at the genetic level using a Bayesian Phylogenetics and Phylogeography (BPP) species delimitation approach based on four nuclear regions. Bioclimatic multivariate analyses of temperature and precipitation variables obtained from occurrence data were used to compare the groups delimited by morphological and genetic data. The results suggest the presence of five distinct species in this complex. Four of these broadly correspond to the actually defined subspecies: *G. quisqueyana*, *G. sintenisii*, *G. sylvicola* and *G. viridiflora*. An additional highly endemic species was recognized, *G. acrochordonanthe*, that consists of the populations found at the Massif de la Hotte in Southwestern Haiti. A distribution map, a table of the new taxonomy and an identification key to the species are provided. The new taxonomy proposed in this study shows an unsuspected

species endemism in some regions of the Caribbean biodiversity hotspot and underlines the importance of investigating species boundaries in diversified groups containing taxa with poorly understood boundaries.

Keywords : taxonomy, species delimitation, species complex, integrative taxonomy, morphology, genetics, bioclimatics, principal components analysis, principal coordinates analysis, Bayesian Phylogenetics and Phylogeography, Gesneriaceae, *Gesneria viridiflora*, Antilles.

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	iii
Table des matières.....	v
Liste des tableaux.....	vii
Liste des figures	viii
Liste des sigles	x
Liste des abréviations.....	xii
Remerciements.....	xiv
1. Introduction.....	1
1.1 Contexte taxonomique	3
1.1.1 Genres <i>Gesneria</i> et <i>Rhytidophyllum</i>	3
1.1.2 Complexe de <i>Gesneria viridiflora</i>	4
1.1.3 <i>Gesneria viridiflora</i> subsp. <i>acrochordonanthe</i>	8
1.1.4 <i>Gesneria viridiflora</i> subsp. <i>quisqueyana</i>	9
1.1.5 <i>Gesneria viridiflora</i> subsp. <i>sintensisii</i>	9
1.1.6 <i>Gesneria viridiflora</i> subsp. <i>viridiflora</i>	10
1.2 Concept d'espèce et délimitation d'espèces	11
1.3 Objectifs.....	13
2. Species delimitation and characterization of the <i>Gesneria viridiflora</i> complex (Gesneriaceae) in the Antilles.....	14
Abstract.....	14
2.1 Introduction.....	16
2.2 Methods.....	19
2.2.1 Morphological analyses	19
Plant material	19
Morphometric methods.....	20

2.2.2 Molecular analyses.....	23
Genetic data	23
Phylogenetic and species delimitation	23
2.2.3 Bioclimatic niche analyses.....	25
2.3 Results.....	26
2.3.1 Morphological results	26
2.3.2 Genetic results.....	30
2.3.3 Bioclimatic results	33
2.4 Discussion.....	35
Identification key:	42
3. Conclusion	44
Bibliographie.....	i
Annexe 1. Liste des spécimens inclus dans l'analyse morphologique	i
Annexe 2. Spécimens et séquences incluses dans les analyses génétiques	v
Annexe 3. Caractères morphologiques significatifs	vii
Annexe 4. Bioclimatic variables on PCA	ix
Annexe 5. Variables bioclimatiques utilisées	x
Annexe 6. Arbres de gènes	xi

Liste des tableaux

Tableau I. Taxonomie de <i>Gesneria viridiflora</i> . Les noms acceptés par Skog (1976) sont en gras.	7
Table II. Code, description and type of quantitative and qualitative characters measured on herbarium specimens used for morphological analyses. *Measured with an electronic caliper. ¹ Measured with a ruler.	22
Table III. New taxonomy including accepted names and synonyms of the taxa in the <i>Gesneria viridiflora</i> complex	41
Table IV. Information of herbarium specimens used in the morphological analyses.....	i
Table V. Voucher information and sequences included in genetic analyses	v
Table VI. Correlation of morphological characters with each of the three first axes of the PCoA and significance of the correlation. Values of p-value in bold represent significant p-values. *P-values significant after Sadok correction for 117 samples (n=117).	vii
Table VII. Sigle and description of bioclimatic variables extracted from the online database WORLDCLIM.....	x

Liste des figures

Figure 1. Photographies des sous-espèces de <i>Gesneria viridiflora</i> reproduites avec la permission des auteurs.	6
Figure 2. Principal coordinates analysis (PCoA) on Gower's distance matrix for qualitative and quantitative morphological traits. A) plot of Axis 1 and Axis 2. B) plot of Axis 1 and Axis 3.	27
Figure 3. Dendrogram of Ward's minimum variance clustering on Gower's distance matrix for qualitative and quantitative morphological traits. Branches are coloured according to the optimal number of clusters with Mantel correlation from different levels of the cut of dendrogram of Ward's minimum variance clustering on Gower's distance matrix for qualitative and quantitative morphological traits (green, subsp. <i>acrochordonanthe</i> ; blue, subsp. <i>quisqueyana</i> ; yellow, subsp. <i>sintenisii</i> ; red, subsp. <i>viridiflora</i> ; see Figure 4). Terminal names are composed of a prefix indicating original identification for subspecies of <i>G. viridiflora</i> (Ac, subsp. <i>acrochordonanthe</i> ; H, Massif de la Hotte populations; Qu, subsp. <i>quisqueyana</i> ; Si, subsp. <i>sintenisii</i> ; ViC, subsp. <i>viridiflora</i> from central Cuba; ViE, subsp. <i>viridiflora</i> from eastern Cuba) followed by an experimental number.	28
Figure 4. Optimal number of clusters with Mantel correlation from different levels of the cut of dendrogram of Ward's minimum variance clustering on Gower's distance matrix for qualitative and quantitative morphological traits.....	29
Figure 5. Summary of results obtained with BPP using genetic data. A) Posterior probability for the number of species delimited. B) Posterior probability for each putative species and combination of putative species with values higher than 0.04. C) Phylogeny inferred from the optimal species delimitation for 5 species. Number on branches are the posterior probability for subtented clade.....	32
Figure 6. Principal components analysis (PCA) of occurrences and bioclimatic variables values at the occurrences. A) plot of PC1 and PC2. B) plot of PC1 and PC3.	34
Figure 7. Distribution map of taxa. Created with SimpleMappr at http://www.simplemappr.net	40
Figure 8. Graphic representation of bioclimatic variables along the three first axes of the PCA. A) Plot of axes of PC1 and PC2. B) Plot of axes of PC1 and PC3.....	ix

- Figure 9.** Arbre phylogénétique du gène CHI pour les individus du complexe de *Gesneria viridiflora*. Les nombres le long des branches correspondent à la probabilité postérieure pour le clade. xi
- Figure 10.** Arbre phylogénétique du gène F3H pour les individus du complexe de *Gesneria viridiflora*. Les nombres le long des branches correspondent à la probabilité postérieure pour le clade. xii
- Figure 11.** Arbre phylogénétique du gène GCYC pour les individus du complexe de *Gesneria viridiflora*. Les nombres le long des branches correspondent à la probabilité postérieure pour le clade. xiii
- Figure 12.** Arbre phylogénétique du gène UF3GT pour les individus du complexe de *Gesneria viridiflora*. Les nombres le long des branches correspondent à la probabilité postérieure pour le clade. xiv

Liste des sigles

ADN	acide désoxyribonucléique
ANOVA	analysis of variance
BPP	Bayesian Phylogenetics and Phylogeography
CHI	chalcone isomerase
CYCLOIDEA	transcription factor TCP20
DNA	deoxyribonucleic acid
F3H	flavanone 3-hydroxylase
FLAS	Florida Museum of Natural History
FTBG	Fairchild Tropical Botanic Garden
GPS	Global Positioning System
GTR	General Time Reversible
m	mètre(s)
MAFFT	multiple Alignment using Fast Fourier Transform
MCMC	Markov Chan Monte Carlo
mm	millimètre(s)
MT	Herbier Marie-Victorin, Université de Montréal
NY	The New York Botanical Garden
PC	principal component
PCs	principal components
PCA	principal component analysis
PCoA	principal coordinates analysis
PCR	polymerase chain reaction

PP	posterior probability
S	Swedish Museum of Natural History
SRP	Boise State University
UF3GT	UDP-glucose:flavonoid 3-O-glucosyltransferase
UNA	University of Alabama
US	Smithsonian Institution

Liste des abréviations

et al.	et alii
C.V. Morton	Conrad Vernon
Decne.	Joseph Decaisne
G.	<i>Gesneria</i>
Hanst.	Johannes Ludwig Emil Robert von Hanstein
L.E. Skog	Laurence Edgar Skog
r	Pearson product-moment correlation coefficient
spp.	species pluralis
subsp.	sous-espèce
Urb.	Ignatz Urban
v.	version
var.	variété

« Esta área pequeña representa una condición que es muy extraordinario en Haití: bosques primitivos. Bosques de cualquier tipo son escasos en Haití. Árboles hay, pero bosques latifoliados de alguna madurez no son nada común. Y un bosque primitivo casi no existe.»
Donald D. Dod, Moscosa 3, 1984 p.94

Remerciements

La réalisation d'un mémoire de maîtrise est le résultat de nombreuses heures de questionnements, de résolutions de problèmes, d'émerveillement et surtout de collaborations. Le tout n'aurait jamais été possible sans la présence, les recommandations, la patience et la confiance de mon directeur de recherche Simon Joly qui fait preuve quotidiennement d'optimisme et de bonne humeur.

Les échanges et conseils enrichissants de la part des professeurs et professeures de l'Institut de recherche en biologie végétale tels que Luc Brouillet et Anne Bruneau se sont avérés être une bonne source d'inspiration à l'aboutissement des travaux de ces dernières années. Je remercie John L. Clark pour sa généreuse collaboration et ses vastes expériences et connaissances avec la des Gesneriaceae qui ont été indispensables à ce projet. Les nombreux étudiants côtoyés quotidiennement, ainsi que leur compréhension et leur soutien solidaires ont été une partie intégrante de mon parcours scolaire des dernières années. Qu'il s'agisse de rencontres formelles, d'événements sociaux, d'échanges communs autour de la table à dîner ou au coin d'un couloir, tous et chacun ont facilité et agrémenté mon quotidien au Centre sur la biodiversité. Je pense notamment à Edeline Gagnon qui a toujours été inspirante et dont les vastes projets se rapprochaient des miens et à Hermine Alexandre qui a toujours offert son généreux soutien, pour ne nommer que quelques personnes.

Dès le tout début du projet j'ai pu bénéficier d'une généreuse et importante collaboration avec Annie Beauchamp, étudiante à la maîtrise à l'école de bibliothéconomie et des sciences de

l'information de l'Université de Montréal, qui a réalisé pour moi une bénéfique recherche bibliographique sur le concept d'espèce.

Les nombreuses heures passées à l'Herbier Marie-Victorin (MT) au cours des dernières années ont été on ne peut plus enrichissantes où non seulement les lieux sont propices à l'inspiration, mais les moments passés ont toujours été enrichissants des expériences et connaissances du personnel et des bénévoles de l'herbier.

L'obtention de matériel et d'échantillons chez des espèces de plantes d'origine tropicale porte en soi tout un défi et une complexité. C'est à ce niveau que différents herbiers de renommée internationale tels que Florida Museum of Natural History (FLAS), The New York Botanical Garden (NY), Swedish Museum of Natural History (S) et Smithsonian Institution (US) m'ont apporté leur soutien bénéfique et essentiel à la prise de données, ainsi qu'au prélèvement de matériel végétatif et à la dissection de structures florales. Je remercie chaleureusement le soutien apporté par The New York Botanical Garden (NY) lors de ma visite des lieux en avril 2014 pour explorer les spécimens de Gesneriaceae des Antilles.

Les travaux sur le terrain n'auraient jamais pu être réalisés sans le soutien et l'aide de collaborateurs locaux. L'agronome William Cinea et Phito Merizier du Jardin botanique des Cayes en Haïti ont été indispensables à l'organisation, à la préparation et à la réalisation des recherches de Gesneriaceae au Parc National Pic Macaya dans le Massif de la Hotte en mai 2014. Les agronomes Lionel Raymond et Christin Calixte de la Fondation Séguin ont été d'un soutien précieux lors de notre passage au Parc National La Visite en mai 2014.

L'obtention d'échantillons appropriés pour l'extraction d'ADN n'est pas tâche facile avec des espèces de plantes tropicales. Je remercie donc la généreuse contribution de Dr. James Smith, professeur à Boise State University pour nous avoir fourni des échantillons de feuilles de *Gesneria viridiflora* conservés en gel de silice.

La réalisation de ce projet est due au financement par le Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG) et la Faculté des études supérieures et postdoctorales (FESP) de l'Université de Montréal. Le voyage d'échantillonnage sur le terrain en Haïti a été financé par le Centre de la science de la biodiversité du Québec (CSBQ) et le Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG). Les conférences présentées et les congrès assistés ont été possible par le financement de la Gesneriad Society et du Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG).

Finalement, la survie au quotidien aurait été impensable sans mes amis aussi nombreux que précieux qui m'ont apporté plaisir, soutien et compréhension dans les meilleurs et dans les pires moments vécus. Il n'y a pas deux personnes comme Karine Lafrenière qui me rappelle toujours pourquoi j'aime ce que je fais et qui est toujours là pour aider, surtout après une chirurgie orthopédique du nerf cubital comprimé au coude! Marcela Paz Canelo Vivar a toujours été présente depuis l'école secondaire dans les mêmes écoles et les mêmes programmes d'études et elle est là pour me rappeler que ce que je vis au quotidien, c'est normal!

1. Introduction

La biodiversité est définie comme la combinaison de la diversité des espèces, des écosystèmes, des populations, du contenu génétique et des relations existantes entre toutes ces entités (Groombridge & Jenkins, 2002). Au niveau planétaire, la biodiversité est répartie inégalement et est notamment regroupée en différents points chauds autour de l'équateur. Un point chaud de biodiversité est une aire géographique présentant une concentration exceptionnelle d'espèces animales et végétales qui subissent d'énormes pertes d'habitats (Myers et al. 2000). Sur cette base, 25 points chauds de biodiversité, qui représentent au total seulement 1.4% de la surface terrestre, ont été délimités par Myers et al. (2000) en termes de vulnérabilité et d'irremplaçabilité (Brooks et al. 2006). Parmi ces points chauds, cinq sont considérés comme prioritaires : Madagascar, les Philippines, Sundaland, la forêt Atlantique du Brésil et les Caraïbes. Une de ces régions, les Caraïbes, est caractérisée par un fort endémisme spécifique et des pertes majeures de végétation primaire avec une superficie de 11.3% de végétation primaire restante (Myers et al. 2000). Une large biodiversité se retrouve dans une aire terrestre limitée, caractérisée par une modification du milieu par les humains. À certains endroits dans les Caraïbes, la situation est encore plus précaire. Par exemple, en Haïti, le couvert forestier et les aires protégées couvrent 1.5% et 0.26%, respectivement, de la surface terrestre du pays (Paryski et al. 1989).

La biodiversité est reconnue pour offrir une multitude de services écologiques, qu'il s'agisse de régulation du climat, de régulation des maladies, de purification de l'eau, d'approvisionnement ou de pollinisation (Groombridge & Jenkins, 2002). En particulier, la pollinisation animale remplit un service essentiel au fonctionnement des écosystèmes aussi bien qu'au rendement

agricole pour fournir des ressources alimentaires aux humains (Zhang et al. 2007). Certains écosystèmes, comme les forêts de nuages, possèdent une diversité exceptionnelle d'espèces et ont un impact majeur sur l'approvisionnement en eau des régions avoisinantes (Hamilton, 1995).

Dans les évaluations locales et globales de la biodiversité, ainsi que dans de nombreux champs de recherche en écologie, macroévolution, biogéographie et conservation, l'espèce est généralement l'unité de base utilisée (Sites & Marshall, 2004). Conséquemment, une meilleure compréhension de la biodiversité, des services écologiques et des processus évolutifs passe par une meilleure connaissance des espèces qui composent les écosystèmes. Dans les aires géographiques riches en espèces endémiques comme les Antilles, on retrouve de nombreuses espèces menacées et peu connues, ce qui implique d'importants enjeux de conservation (Colon, 1996). Les limites d'espèces et la structure des populations ne sont pas toujours bien comprises et les espèces sont souvent extensivement subdivisées (Bohonak, 1999). La délimitation d'espèces est particulièrement ardue dans des complexes d'espèces où plusieurs caractères sont différents entre les populations de différentes régions géographiques au sein d'une espèce (Wade & Goodnight, 1998). De plus, la délimitation d'espèces n'est pas sans conséquences pour la conservation, particulièrement dans le cas de taxons endémiques, menacés, ou dont l'habitat se raréfie, où différentes limites d'espèces impliquent différents enjeux de conservation.

1.1 Contexte taxonomique

1.1.1 Genres *Gesneria* et *Rhytidophyllum*

La famille des gesnériacées (Gesneriaceae) est une grande famille diversifiée principalement dans les milieux tropicaux et subtropicaux, avec quelques espèces retrouvées en milieux tempérés. Cette famille comprend 164 genres (The Plant List, 2013) et 3240 espèces (Skog & Boggan, 2007) dont les fleurs attrayantes confèrent une haute valeur horticole à une grande variété d'espèces prisées par les collectionneurs spécialisés et les jardins botaniques du monde. Les représentants les plus connus des Gesneriaceae sont les populaires violettes africaines (*Saintpaulia* spp.). Les Gesneriaceae sont des herbacées vivaces, de courts arbustes ou de très grands arbustes pouvant atteindre 15 m de hauteur. À l'instar de plusieurs grandes familles, les Gesneriaceae se sont diversifiées dans plusieurs points chauds de biodiversité, notamment en Asie, dans le sud de l'Afrique, en Amérique du Sud, et aussi dans les Caraïbes où la sous-tribu des Gesneriinae s'est diversifiée. La sous-tribu des Gesneriinae comprend les genres *Bellonia*, *Gesneria*, *Pheiodocarpa* et *Rhytidophyllum* et fait partie de la tribu Gesnerieae qui est apparentée à la tribu Gloxininieae dans l'arbre phylogénétique des Gesneriaceae (Zimmer et al. 2002; Smith et al. 2004a). Les genres *Gesneria* et *Rhytidophyllum* forment un groupe monophylétique d'environ 70 espèces principalement trouvées dans les Grandes Antilles (Cuba, Hispaniola, Porto Rico et Jamaïque) et qui ont divergé il y a environ 8 millions d'années (Roalson et al. 2008). Différents types de pollinisation sont associés à la morphologie florale dans ces genres. Les espèces pollinisées par les colibris ont des fleurs tubulaires aux couleurs vives, les espèces pollinisées par les chauves-souris ont des fleurs campanulées aux couleurs

pâles, et les espèces généralistes pollinisées par les colibris et les chauves-souris ont des fleurs subcampanulées avec une constriction près de la base de la corolle et arborent des couleurs variables (Martén-Rodríguez & Fenster, 2008; Martén-Rodríguez et al. 2009). De plus, de récentes études démontrent la convergence évolutive pour la pollinisation généraliste et par les chauves-souris, la pollinisation par les colibris étant l'état ancestral dans le groupe (Martén-Rodríguez et al. 2010).

1.1.2 Complexe de *Gesneria viridiflora*

Gesneria viridiflora est un complexe de quatre sous-espèces (Tableau I; Figure 1) qui forment l'entièreté de la section Duchartrea du genre *Gesneria* (Skog, 1976). Les sous-espèces sont allopatriques : la sous-espèce *acrochordonanthe* se trouve au sud-ouest d'Hispaniola (Haïti et République Dominicaine), la sous-espèce *quisqueyana* au nord-est de l'île d'Hispaniola (République Dominicaine), la sous-espèce *sintenisii* à l'est de Porto Rico et la sous-espèce *viridiflora* au centre et à l'est de Cuba. Les sous-espèces de *Gesneria viridiflora* sont des arbustes de plusieurs mètres de hauteur qui produisent de longs pédoncules portant de nombreuses fleurs (Figure 1) à la corolle subcampanulée (avec une constriction près de la base de la corolle) à campanulée de couleur variable. Il a été démontré que *G. viridiflora* subsp. *sintenisii*, avec une corolle subcampanulée, a une pollinisation généraliste puisqu'elle peut être pollinisée autant par des colibris que par des chauves-souris (Martén-Rodríguez & Fenster, 2008). *Gesneria viridiflora* subsp. *quisqueyana*, bien que possédant une corolle similaire à la sous-espèce *sintenisii*, est exclusivement pollinisée par les chauves-souris grâce à un mécanisme actif où la corolle se ferme pendant le jour (Martén-Rodríguez et al. 2009). Les pollinisateurs

des sous-espèces *acrochordonanthe* et *viridiflora* ne sont pas connus, bien qu'il soit plausible de faire l'hypothèse que ces plantes ont une pollinisation généraliste ou par les chauves-souris. Les sous-espèces de ce complexe montrent une convergence de la morphologie florale avec la plupart des espèces du genre *Rhytidophyllum* qui possèdent un mode de pollinisation généraliste (Martén-Rodríguez et al. 2010).

En 1957, Morton a divisé les individus de *Gesneria viridiflora* de Cuba en 3 variétés (var. *acutifolia*, var. *colorata* et var. *obovata*) en se basant sur la variation de la forme des feuilles ou de la coloration de la corolle. Dans sa révision taxonomique du genre *Gesneria*, Skog (1976) n'a pas conservé ces variétés étant donné que les observations sur les sous-espèces *quisqueyana* et *sintenisii* montraient aussi une grande variation au niveau des caractères foliaires. Skog (1976) émet donc l'hypothèse que ces variations morphologiques de la feuille sont dues à l'effet de différentes pressions écologiques lors de l'ontogenèse de la feuille. Les variétés définies par Morton (1957) ont aussi été étudiées par Clark et al. (2013) dans toutes les localités types et ils ont conclu que les variations de la forme de la feuille étaient communes à l'intérieur des populations, de même que la forme de l'apex et la couleur de la face abaxiale. Ces observations les ont mené à affirmer que ces variations morphologiques ne justifiaient pas une délimitation taxonomique. Chaque sous-espèce présentement acceptée est décrite en détail dans les prochaines sections.



Figure 1. Photographies des sous-espèces de *Gesneria viridiflora* reproduites avec la permission des auteurs.

Tableau I. Taxonomie de *Gesneria viridiflora*. Les noms acceptés par Skog (1976) sont en gras.

***Gesneria viridiflora* (Decne.) Kuntze (1891)**

Gesneria viridiflora subsp. *viridiflora* L.E. Skog (1976)

Gesneria viridiflora subsp. *colorata* (C.V. Morton) Borhidi (1975)

Gesneria viridiflora var. *acutifolia* C.V. Morton (1957)

Gesneria viridiflora var. *colorata* C.V. Morton (1957)

Gesneria viridiflora var. *obovata* C.V. Morton (1957)

Pentaraphia viridiflora (Decne.) Hanst. (1865)

Duchartrea viridiflora Decne. (1846)

***Gesneria viridiflora* subsp. *acrochordonanthe* L.E. Skog (1976)**

Gesneria acrochordonanthe (L.E. Skog) Borhidi (1979)

***Gesneria viridiflora* subsp. *quisqueyana* (Alain) L.E. Skog (1976)**

Gesneria sintenisii subsp. *quisqueyana* (Alain) Borhidi (1979)

Gesneria sylvicola Alain (1973)

Gesneria quisqueyana Alain (1971)

***Gesneria viridiflora* subsp. *sintenisii* (Urb.) L.E. Skog (1976)**

Duchartrea sintenisii (Urb.) Britton (1925)

Gesneria sintenisii Urb. (1901)

1.1.3 *Gesneria viridiflora* subsp. *acrochordonanthe*

Gesneria viridiflora subsp. *acrochordonanthe* est la sous-espèce la moins récoltée et la moins connue du complexe de *G. viridiflora*. Elle croît en Haïti et dans le centre de la République Dominicaine dans les forêts néphéliphiles des montagnes à formation calcaire à des altitudes allant de 1000 à 1700 m. Ce taxon est distinct des autres sous-espèces par une corolle verruqueuse, la marge des lobes pétales supérieurs fimbriée et des sépales épais à l'apex rond à aigu. Le spécimen type (H9236, 2 novembre 1927) récolté par Erik L. Ekman à Bonnet-Carré, Saint-Louis du Sud au Massif de la Hotte, avait été identifié comme *G. sintenisii* avant que *G. viridiflora* subsp. *acrochordonanthe* ne soit décrit par Skog (1976). D'autres récoltes de cette sous-espèce ont été faites à Bois Formon au Massif de la Hotte (Ekman, H7572; Clark et al. 14467) et dans la Parc national La Visite au Massif de la Selle (Judd & Skean, 4427; Clark et al. 14522). Skog (1976) affirme que cette sous-espèce est endémique au Massif de la Hotte dans la péninsule de Tiburon en Haïti (sud-ouest d'Haïti), toutefois, des spécimens auparavant identifiés comme *G. viridiflora* subsp. *quisqueyana* ou *G. sylvicola* et récoltés plus au centre d'Hispaniola ont récemment été identifiés comme *G. viridiflora* subsp. *acrochordonanthe* par Skog. Ceci suggère que cette sous-espèce aurait une distribution géographique plus grande que ce qu'il y avait été décrit initialement.

1.1.4 *Gesneria viridiflora* subsp. *quisqueyana*

Gesneria viridiflora subsp. *quisqueyana*, endémique au nord de la République Dominicaine, est un grand arbuste aux feuilles coriaces dont la face abaxiale est colorée rouge à cuivré, la marge des lobes pétales est denticulée et les sépales sont filiformes à l'apex rond. On trouve cette sous-espèce sur des formations rocheuses calcaires dans des climats humides à des altitudes allant jusqu'à 1000 m. Le spécimen type a été récolté par Alain Liogier (15386, 7 mai 1969) à La Cumbre, Jamao dans la Cordillera Septentrional. Les spécimens récoltés au centre de la République Dominicaine (Cordillera Central) et identifiés comme *G. viridiflora* subsp. *quisqueyana*, *G. sylvicola* ou *G. quisqueyana* correspondent plutôt à *G. viridiflora* subsp. *acrochordonanthe*.

1.1.5 *Gesneria viridiflora* subsp. *sintenisii*

Gesneria viridiflora subsp. *sintenisii* est un arbuste endémique de l'est de Porto Rico (El Yunque National Forest et Carite Forest Reserve) qui présente des feuilles semi-coriaces à la face abaxiale verte pâle, la marge des lobes pétales de la corolle est lisse, et les sépales sont filiformes à l'apex rond. La sous-espèce croît dans les forêts pluviales et près des cascades à des altitudes de 700 à 1000 m. Le spécimen type a été récolté par P. Sintenis (5332, 27 octobre 1886) dans la Sierra de Naguabo.

1.1.6 *Gesneria viridiflora* subsp. *viridiflora*

Gesneria viridiflora subsp. *viridiflora* est endémique aux montagnes du centre et de l'est de Cuba. Ce sont de grands arbustes dont la corolle est lisse, la marge des lobes pétales de la corolle est fimbriée et les sépales épais sont élargis apicalement. On retrouve les plantes de la sous-espèce *viridiflora* dans les forêts humides près des cascades à des altitudes de 700 à 1400 m. Le spécimen type récolté par J. Linden (1702, 1843-1844) provient de la Sierra Maestra à Santiago de Cuba. Il s'agit du taxon le plus anciennement connu du complexe de *G. viridiflora*.

1.2 Concept d'espèce et délimitation d'espèces

D'Aristote à aujourd'hui, la conceptualisation des espèces a beaucoup évolué et de nombreux concepts d'espèces ont été formulés à travers les siècles et les décennies. En biologie, plus de 24 concepts d'espèces contemporains ont été relevés (Mayden, 1997; Mayden, 1999). Par exemple, une espèce peut être définie par son isolation reproductive (Mayr, 1942), par son adaptation à différentes conditions écologiques (Valen, 1976), par sa monophylie (Donogue, 1985), par la démonstration de groupements phénétiques (Sokal & Crovello, 1970) ou encore en démontrant la formation de groupements génotypiques (Mallet, 1995). Les concepts d'espèces proposés sont aussi nombreux que diversifiés et montrent bien que le concept d'espèces n'a jamais fait l'objet d'un consensus dans le temps. Les différents concepts d'espèces sont incompatibles dans le sens que l'application de différents concepts peut mener à différentes délimitations d'espèces. On peut expliquer ce manque de consensus par le fait que la définition de l'espèce semblerait être confondue avec la délimitation des espèces. La délimitation des espèces implique plutôt d'établir les moyens utilisés pour définir les espèces. Il a donc été déterminé que l'absence de consensus entre les concepts d'espèces devrait être approchée différemment, en démontrant l'unité conceptuelle qui est soulignée par chacun des concepts proposés. C'est sur cette base que De Queiroz (2007) a formulé un concept d'espèce unifié qui clame que tous les concepts d'espèces contemporains sont basés sur le fait qu'une espèce est une lignée de métapopulations qui évolue séparément d'une telle autre entité. Cette propriété est un élément primaire à la base de la délimitation des espèces qui consiste en l'accumulation d'évidences qui démontrent l'évolution séparée d'une lignée de métapopulations. Tous les concepts d'espèces contemporains s'appuient sur différentes propriétés biologiques importantes

qui se différencient lors de la séparation des lignées suite à la spéciation. La discordance entre concepts d'espèces repose sur le fait que les critères de distinction des différents concepts s'acquièrent à différents moments suivant la séparation des lignées évolutives et pas nécessairement dans le même ordre lors de différents événements de spéciation. Lorsque deux lignées ont divergé depuis longtemps, on constate qu'elles sont distinguées par de nombreuses évidences. On considère les différentes propriétés acquises par les lignées durant leur divergence comme un critère secondaire du concept d'espèce. Une propriété secondaire, lorsque correctement interprétée, correspond à une évidence permettant de délimiter les espèces. L'accumulation de différentes propriétés apporte donc des évidences supplémentaires à la délimitation d'espèces.

Comme l'espèce est l'unité taxonomique fondamentale en biologie, la définition d'un concept d'espèce s'avère donc d'une grande importance, car c'est selon ce concept que seront définies les limites d'espèces (Mayr, 1996). Dans tous travaux de taxonomie et de systématique, il est essentiel de définir le concept d'espèce sur lequel se base une délimitation d'espèce ou un traitement taxonomique. De plus, la définition du concept d'espèce utilisé permet une plus grande reproductibilité et une meilleure compréhension de l'approche utilisée et des décisions taxonomiques qui sont prises.

1.3 Objectifs

Les menaces posées à la biodiversité accentuent l'importance de bien connaître les espèces qui composent les écosystèmes dans les régions riches en biodiversité. *Gesneria viridiflora* est une espèce divisée en quatre sous-espèces variables difficiles à distinguer morphologiquement. Les sous-espèces sont disjointes les unes des autres, ce qui pose une barrière prézygotique considérable à l'échange de gènes entre ces entités, d'autant plus que certaines sous-espèces ont différents types de pollinisation (Martén-Rodríguez et al. 2009). L'absence de définition du concept d'espèce utilisé par Skog (1976) lors de la révision du genre *Gesneria* accentue la confusion taxonomique au sein du complexe de *G. viridiflora*, étant donné que ses décisions n'étaient pas ancrées dans un cadre théorique. Il apparaît donc pertinent de se pencher à nouveau sur la délimitation des espèces dans le complexe du *G. viridiflora*. Dans ce mémoire, la délimitation des espèces sera évaluée en considérant trois sources d'informations : la morphologie, la génétique et la niche bioclimatique. L'utilisation de critères phénotypiques, génotypiques et écologiques permettra d'avoir un aperçu de différentes propriétés secondaires afin de conclure sur les espèces devant être reconnues dans ce complexe.

2. Species delimitation and characterization of the *Gesneria viridiflora* complex (Gesneriaceae) in the Antilles

François Lambert¹, John L. Clark^{2,3}, Simon Joly^{1,4,*}

¹ *Institut de recherche en biologie végétale, Département de sciences biologiques, Université de Montréal, Montréal, Canada.*

² *Department of Biological Sciences, The University of Alabama, Tuscaloosa, AL, USA*

³ *Science Department, The Lawrenceville School, Lawrenceville, NJ, USA*

⁴ *Montreal Botanical Garden, Montréal, Canada.*

* *To whom correspondance should be addressed: Institut de recherche en biologie végétale, 4101 Sherbrooke East, Montreal (QC) H1X 2B2, Canada; +1 514.872.0344.*

Authors' contribution:

François Lambert: Project conception, data collection, data analysis, results interpretation and manuscript writing.

John L. Clark: Data collection and manuscript review.

Simon Joly: Project conception, data collection and manuscript review.

Abstract

An accurate taxonomy and knowledge of species limits is of great importance in endemic species-rich biodiversity hotspots like the Caribbean. Indeed, conflicting species limits can alter biodiversity estimates and influence the decisions taken on conservation issues. The genera *Gesneria* and *Rhytidophyllum* constitute the main representatives of the Caribbean Gesneriaceae and comprise a few species with unclear boundaries as well as species having several recognized subspecies. *Gesneria viridiflora* (Decne.) Kuntze is a good example of the latter and consists of four geographically isolated subspecies that possess similar but variable vegetative and reproductive characters. We conducted a thorough investigation of species delimitation in this

species complex using an integrative taxonomic approach that includes morphology, genetics and bioclimatic data. Qualitative and quantitative morphological data obtained from herbarium specimens were used to circumscribe morphologically distinct groups using a principal coordinates analysis. These groups were then tested at the genetic level using a Bayesian Phylogenetics and Phylogeography (BPP) species delimitation approach based on four nuclear regions. Bioclimatic multivariate analyses of temperature and precipitation variables obtained from occurrence data were used to compare the groups delimited by morphological and genetic data. The results suggest the presence of five distinct species in this complex. Four of these broadly correspond to the actually defined subspecies: *G. quisqueyana*, *G. sintenisii*, *G. sylvicola* and *G. viridiflora*. An additional highly endemic species was recognized, *G. acrochordonanthe*, that consists of the populations found at the Massif de la Hotte in Southwestern Haiti. A distribution map, a table of the new taxonomy and an identification key to the species are provided. The new taxonomy proposed in this study shows an unsuspected species endemism in some regions of the Caribbean biodiversity hotspot and underlines the importance of investigating species boundaries in diversified groups containing taxa with poorly understood boundaries.

2.1 Introduction

Biodiversity is not equally distributed around the globe and is instead clustered in hotspots located near the tropics. According to Myers et al. (2000), the Caribbean is one the top five biodiversity hotspots because of its large proportion of endemic plant and animal species and the recent drastic loss of primary forests. Approximately 72% of the Caribbean flora is endemic (Smith et al. 2004b) and it ranks third in the world for endemic genera with 205 (Smith et al. 2004b). It is also estimated that 2.6% of all plant species are restricted to the Caribbean region (Wege et al. 2010). The isolation provided by the multiple islands, along with the important geographic and topographic diversity, has certainly provided ample evolutionary opportunities to generate this biodiversity. At the same time, these features threaten this diversity by placing it in higher extinction risk because of the important local endemism. It is thus of prime importance to have well delimited species to allow adequate conservation and biodiversity management (Campbell & Hammond, 1989). Poorly understood species boundaries could result in extensively subdivided species (Bohonak, 1999), underestimating species diversity and making it difficult to properly address conservation issues (Zink, 2004). Species delimitation is particularly difficult in species complexes where characters within species covary with geography (Wade & Goodnight, 1998). Such taxonomic problems can only be solved using detailed analyses of large numbers of individuals across the range of the species under study.

The genera *Gesneria* and *Rhytidophyllum* (Gesneriaceae) are, with two exceptions (*Gesneria cumanensis* and *Gesneria onacaensis*) endemic to the Caribbean islands and is a relevant group to address the complexity of species boundaries and plant diversity in the Caribbean biodiversity hotspot. Most species of *Gesneria* and *Rhytidophyllum* are found within

the Greater Antilles (Cuba, Hispaniola, Puerto Rico and Jamaica) with only two species found in the Lesser Antilles and two species in South America (Skog & Boggan, 2007). This diverse group consists of about 70 species that diverged ca. 8 million years ago (Roalson et al. 2008). This group possesses several closely related species with unclear boundaries as well as species that possess several recognized subspecies. One example of the latter is *Gesneria viridiflora* (Decne.) Kuntze that is the unique species of section Duchartrea (Skog, 1976). The plants of this species are large resinous shrubs up to 6 m high growing in wet cloudforests of the Greater Antilles with the exception of Jamaica. They produce long peduncles that exceed the subtending leaves and bear numerous flowers with campanulate corollas. The subspecies are can be mainly distinguished by the presence or absence of warts on the calyx and corolla, by the shape of calyx lobes (filiform or thick), by the corolla lobe margins (smooth, denticulate or fimbriate) and by the color of the leaf abaxial surface (green, pale green, brown or reddish) (Skog, 1976).

Skog (1976) recognized four allopatric subspecies based on morphology in his monograph. The currently accepted names for the taxa are *G. viridiflora* subsp. *acrochordonanthe* L.E. Skog from southwestern Hispaniola, subsp. *quisqueyana* (Alain) L.E. Skog from Dominican Republic, subsp. *sintensisii* (Urb.) L.E. Skog from eastern Puerto Rico and subsp. *viridiflora* (Decne.) Kuntze from Cuba. Of those taxa, only *G. viridiflora* subsp. *acrochordonanthe* was newly described by Skog and subsequent identification of herbarium specimens by Skog (F. Lambert, pers. obs.) following his treatment suggest that the distribution of this subspecies extends to the central Dominican Republic, suggesting that *G. quisqueyana* is endemic to northern Dominican Republic. Morton (1957) had previously defined three varieties of *G. viridiflora* in Cuba based on leaf shape. These varieties were synonymized by Skog (1976) as he considered leaf shape characteristics to be too variable within and between populations. The

isolation of the taxa composing the *G. viridiflora* complex presents an interesting biogeographic pattern with remarkable geographic barriers such as the sea or mountains ranges. Given important morphological variation in this complex (both within and among subspecies) and the allopatric nature of the subspecies, *G. viridiflora* represented a good candidate within the genus *Gesneria* to re-investigate taxonomic boundaries.

Unfortunately, Skog (1976) did not rely on an explicit species concept for his taxonomic decisions. This makes it difficult to understand his motivation in deciding to delimit the taxonomic entities in *G. viridiflora* as subspecies, instead of species for instance. The use of an explicit species concept is important because it poses the bases of species delimitation and allows a better evaluation of the work of taxonomists. In this study, species are delimited under the Unified Species Concept (De Queiroz, 2007) that defines the species as a lineage of metapopulations evolving separately from other such entities. The concept considers that all criteria potentially providing evidence of lineage separation are relevant to species delimitation because discontinuities between species are not expected to evolve at the same rate for all criteria following speciation. Even if a single criterion may be sufficient for species delimitation, multiple lines of evidence are preferred and can demonstrate an accentuated evolutionary independence of the lineages.

In this study, we use an integrative taxonomic approach that combines multiple lines of evidence relevant for defining species boundaries in the *G. viridiflora* complex. Putative species boundaries were first circumscribed using morphological data and then tested using genetic and bioclimatic data. We conclude that five distinct species should be recognized in the complex. We provide a new taxonomic treatment for the group, an identification key and a distribution map, and discuss our findings in terms of evolution and biogeography.

2.2 Methods

2.2.1 Morphological analyses

Plant material

Seventy-seven herbarium specimens (Table IV) of *Gesneria viridiflora* and synonyms of all currently its recognized subspecies (Skog & Boggan, 2007) were examined for morphological measurements. Only the specimens presenting minimal vegetative and reproductive structures were analyzed. Seventy-three specimens came from herbarium loans from FLAS; NY; S and US, and four specimens (deposited at MT) were collected in the field in Haiti and Puerto Rico. According to the current taxonomy, these samples consist in 10 specimens of *G. viridiflora* subsp. *acrochordonanthe*, 30 of *G. viridiflora* subsp. *quisqueyana*, 16 of *G. viridiflora* subsp. *sintenisii* and 21 of *G. viridiflora* subsp. *viridiflora* (5 from central Cuba and 16 from eastern Cuba). These cover the entire geographic range of *G. viridiflora* from central Cuba to eastern Puerto Rico. The type locality of all taxa studied was included, except for *G. viridiflora* subsp. *acrochordonanthe*. The holotype of *G. quisqueyana* Alain was included as well as an isotype of *G. viridiflora* var. *colorata* C.V. Morton. The corolla has a high potential for taxon differentiation in genus *Gesneria* (Skog, 1976), but few herbarium specimens have corollas. When duplicated specimens were available, the most complete specimen was chosen. In some instances, specimens with incomplete features (e.g., lacking calyx lobes or capsules) were nevertheless included to ensure a good geographic representation of all taxa. This is true for *G.*

viridiflora subsp. *acrochordonanthe* that is poorly collected and *G. viridiflora* subsp. *sintensisii* that is highly endemic.

Morphometric methods

Qualitative and quantitative characters were selected because of their variation in the complex or based on subspecies descriptions (Skog, 1976). Twenty-four qualitative characters (Table II) were observed with a dissecting microscope and coded into binary or multistate variables. Fifteen quantitative characters (Table II) were measured with a 15 cm ruler of 1 mm precision or with an electronic caliper of 0.1 mm precision. The characters CalLobApexWid and VerWid (Table II) were measured on a binocular with an ocular micrometer of 0.2 mm precision. The character FlwNb was counted. Whenever possible, the final value of quantitative characters comes from the mean of the 2 most extreme values found within an individual. A morphological distance matrix between individual specimens was calculated using the Gower distance method (Gower, 1971) that has the property of considering both quantitative and qualitative characters. The Gower method also has the advantage of not being significantly influenced by the few missing morphological features present in some measured specimens (Brown et al. 2012). The morphological distance matrix was visualized by means of principal coordinates analysis (PCoA) using the “pcoa” function from the “ape” package (Paradis et al. 2004) in R (R Core Development Team, 2012). The Ward’s minimum variance clustering method was also used to look for interpretable objective clusters. The optimal number of groups on this dendrogram was the one that resulted in the highest Mantel correlation between the original distance matrix and the groups (Borcard et al. 2011). The contribution of the quantitative and qualitative binary

variables to the PCoA axes was determined with the calculation of the Pearson correlation between the values of the variables and each of the first three axes of the PCoA (Legendre & Legendre, 2012). The contribution of the qualitative multistate variables to PCoA axes was determined by calculating a one-way ANOVA for each quantitative variable values and the first three axes of the PCoA. The variables with the best p-values after Sidak correction (117 comparisons) are considered as those describing variation observed along the axes.

Table II. Code, description and type of quantitative and qualitative characters measured on herbarium specimens used for morphological analyses. *Measured with an electronic caliper. ¹Measured with a ruler.

Code	Character	Type
Quantitative characters		
PetLen	Petioles length (mm) ¹	Continuous
LeavLen	Leaves length (from petiole base to blade apex) (cm) ¹	Continuous
LeavMTooS	Distance between leaves margins tooth (mm)*	Continuous
LeavWidPt	Leaves length from petiole base to widest point of blade (cm) ¹	Continuous
LeavWid	Leaves width at the widest point of blade (cm) ¹	Continuous
PedLen	Peduncles length from peduncle base to the first division of the cyme (cm) ¹	Continuous
PedDiam	Peduncles diameter at any point of peduncle (mm)*	Continuous
PediLen	Pedicel length from base of pedicel to the base of floral tube (mm)*	Continuous
FlwNb	Flower number per inflorescence	Discrete
CalLobLen	Calyx lobes length from base to apex (mm)*	Continuous
CalLobApexWid	Calyx lobes apex width (mm)	Continuous
CalLobBaseWid	Calyx lobes base width (mm)*	Continuous
VerWid	Verruca width on calyx lobes and capsule (mm)	Continuous
CapLen	Capsule length from pedicel apex to calyx lobe base (mm)*	Continuous
CapWid	Capsule width at widest point/apex (mm)*	Continuous
Qualitative characters		
BarkCol	Barkcolor	Discrete
ApexRes	Apex resinous	Binary
LeavMarg	Leaves margins shape	Discrete
CorLeav	Leaves toughness	Binary
LeavAbaCol	Leaves abaxial color	Discrete
LeavMainVein	Leaves main veins evidence	Discrete
LeavMinVein	Leaves minor veins evidence	Discrete
CenVeinRes	Central vein resin abundance	Binary
CenVeinVer	Central vein verruca abundance	Binary
LeavBase	Leaves base shape	Discrete
LeavApex	Leaves apex shape	Discrete
LeavShape	Leaves shape	Discrete
PetRes	Petioles resin abundance	Binary
PetCol	Petioles color	Discrete
PetVer	Petioles verruca abundance	Binary
PedCol	Peduncles color	Discrete
PedVer	Peduncles verruca abundance	Binary
PedRes	Peduncles resin abundance	Binary
CalLobApexThick	Calyx lobes apex thickness	Binary
CalLobApex	Calyx lobes apex shape	Discrete
CalVer	Calyx verruca abundance	Binary
CalLobVer	Calyx lobes verruca abundance	Binary
CapRes	Capsule resin abundance	Binary
CarVer	Capsule verruca abundance	Binary

2.2.2 Molecular analyses

Genetic data

Material for DNA extractions comes from leaf samples collected in the field and conserved in silica gel, and from leaf samples removed from herbarium specimens collected since 1980 and conserved at FLAS; NY and US (Table V). DNA was extracted using the plant DNeasy kit (QIAGEN, Mississauga, Ontario, Canada) following the manufacturer's instructions. Four single copy nuclear genes were amplified and sequenced: *CHI*, *CYCLOIDEA*, *F3H* and *UF3GT*. Those genes are unlinked (H. Alexandre, unpublished data). PCR amplification followed Joly et al. (2016), except for recalcitrant samples for which we used Phire Hot Start II (Thermoscientific) enzyme for amplification following the manufacturer's instructions. Sequencing reactions were performed by the Genome Quebec Innovation Centre and run on a 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems). DNA sequences generated for this study are deposited in Genbank and combined with sequences from previous studies (Table V).

Phylogenetic and species delimitation

DNA sequences from both primers were assembled into contigs and manually corrected in Geneious (Drummond et al. 2011). Sequences were then aligned using MAFFT (Kato et al. 2002). The species *Gesneria fruticosa* was included as outgroup as it is closely related to *G. viridiflora* (Joly et al. 2016). To provide an initial assessment of genetic pattern in the group, a

phylogenetic analysis of sequences was conducted independently for each gene. Trees were estimated by Bayesian inference with MrBayes 3.2.2 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001) using a GTR + I + Γ model. *Gesneria fruticosa* was used as outgroup. Two independent Markov Chain Monte Carlo runs of 1,000,000 generations were performed, sampling every 100th generation and removing the first 100,000 as burnin. Runs were considered to have converged when standard deviation of split frequencies was below 0.01.

The species delimitation and the species phylogeny were jointly estimated from all four markers using the unguided Bayesian species delimitation method implemented in Bayesian Phylogenetics and Phylogeography (BPP) 3.1 (Yang & Rannala, 2014). This coalescent-based method infers species delimitation from genetic data using a priori groupings by trying to merge the groups together and estimating if these merged species are better supported by the data. The program simultaneously estimates the species tree for the species during the analysis. The a priori groups given to the program, that is the species whose delimitation will be tested, corresponded to the distinct groups identified by the morphometric analyses. We also treated the sample from the Massif de la Hotte in Haiti as a putative distinct species as gene phylogenies suggested it was distant from other *Hispaniola* specimens (see results; Annexe 6). This decision was taken to minimize the risk of biases due to improper assignment. The analyses with BPP were performed using the following parameters: speciesdelimitation = 1, algorithm = 1, finetune (a) = 2, finetune (m) = 1, speciesmodelprior = 1, usedata = 1 and cleandata = 0. The Markov Chain Monte Carlo (MCMC) analysis was run for 100 000 generations with sampling frequency of 1 and a burn-in of 8000. We presented the phylogenetic tree with all putative species, which was the highest sum of clade credibility tree amongst the tree from the MCMC run that possessed exactly these species. Note that this tree was completely compatible with the tree

obtained from the best species delimitation scenario. This tree was selected and annotated in TreeAnnotator v1.8.2 (Drummond et al. 2012).

2.2.3 Bioclimatic niche analyses

We investigated whether the species circumscribed in the morphometric and genetic analyses had different bioclimatic preferences. Presence data were collected from GPS points taken in the field in Cuba and Haiti and from georeferenced localities found on herbarium specimens from FLAS; NY; S and US. Georeferencing for herbarium specimen without GPS coordinates was done with the help of Geolocate (Rios & Bart, 2010). This resulted in a total of 95 presence points, representing 13, 6, 20, 14 and 49 points for the subspecies *G. viridiflora* subsp. *acrochordonanthe*, subsp. *acrochordonanthe* Massif de la Hotte populations, subsp. *quisqueyana*, subsp. *sintenisii* and subsp. *viridiflora*, respectively. Bioclimatic variables were extracted from the WORLDCLIM database (Hijmans et al. 2005) using a resolution of 30 arc-second. Several bioclimatic variables from the WORLDCLIM database are autocorrelated with each other, which can have undesirable consequences for statistical analyses with prediction objectives. However, because the objective of the present study was only to describe the bioclimatic niche of the taxa, all bioclimatic variables were included in the present analysis. The representation of samples in the bioclimatic space was done by principal component analysis (PCA) of a correlation matrix. Bioclimatic analyses were performed using the R software (R Core Development Team, 2012) with packages maps (Becker & Wilks, 1993), rgdal (Bivand & al. 2013) and ade4 (Thioulouse et al. 1997).

2.3 Results

2.3.1 Morphological results

The first three axes of the PCoA explained 16.28% of the total morphological variation (Figure 2A). Four groups, identified as the optimal delimitation on Ward's dendrogram (Figure 3 & Figure 4), are highlighted on the ordination. These groups form different clusters on the PCoA and they correspond to the currently accepted subspecies *G. viridiflora* subsp. *acrochordonanthe*, subsp. *quisqueyana*, subsp. *sintensisii* and subsp. *viridiflora*. An individual of *G. viridiflora* subsp. *acrochordonanthe* from the Massif de la Hotte (Haiti) that falls within the *acrochordonanthe* group is nevertheless highlighted to facilitate comparisons with the genetic results (Figure 2). No further divisions were apparent within these groups (Figure 2).

The group that corresponds to subspecies *quisqueyana* can be distinguished from the others along Axis 1, which is significantly correlated with characters LeavAbaCol, CalLobVer, CalLobApex, VerWid, FlwNb, PediLen, PedLen, CapLen and CapWid, among others (Table VI). The group that corresponds to subspecies *sintensisii* is clearly separated from all others along Axis 2, which is significantly correlated with the characters LeavAbaCol, LeavMarg, CorLeav, LeavMainVein and LeavApex, among others (Table VI). The last two groups, which correspond to the subspecies *viridiflora* and *acrochordonanthe*, can be distinguished along both Axes 2 and 3, although they are close to each other on both axes. Axis 3 is mainly correlated with characters LeavAbaCol, LeavMinVein, LeavMTooS and LeavMarg, among others (Table VI). These morphological results thus suggest the presence of four distinct species.

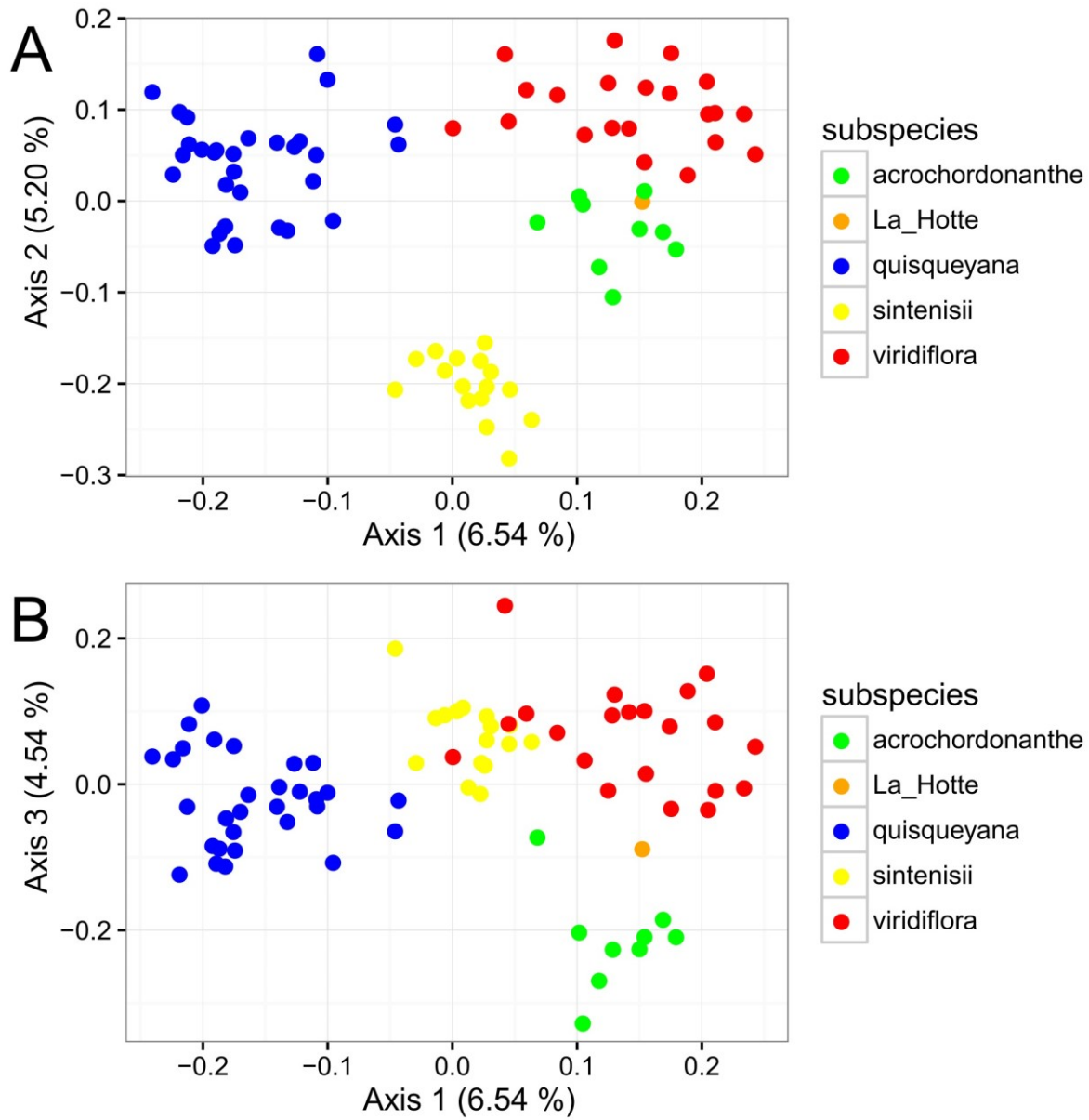


Figure 2. Principal coordinates analysis (PCoA) on Gower's distance matrix for qualitative and quantitative morphological traits. A) plot of Axis 1 and Axis 2. B) plot of Axis 1 and Axis 3.

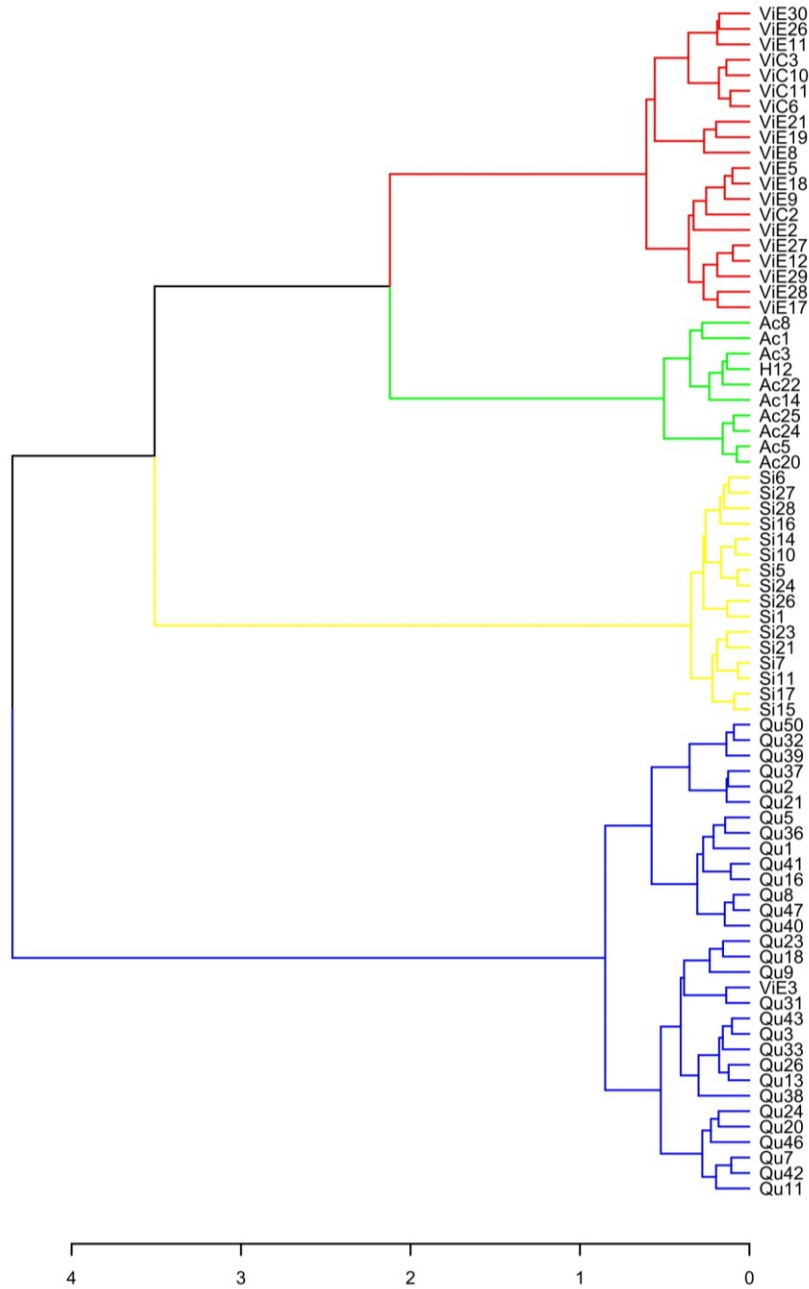


Figure 3. Dendrogram of Ward's minimum variance clustering on Gower's distance matrix for qualitative and quantitative morphological traits. Branches are coloured according to the optimal number of clusters with Mantel correlation from different levels of the cut of dendrogram of Ward's minimum variance clustering on Gower's distance matrix for qualitative and quantitative morphological traits (green, subsp. *acrochordonanthe*; blue, subsp. *quisqueyana*; yellow, subsp. *sintensisii*; red, subsp. *viridiflora*; see Figure 4). Terminal names are composed of a prefix indicating original identification for subspecies of *G. viridiflora* (Ac, subsp. *acrochordonanthe*; H, Massif de la Hotte populations; Qu, subsp. *quisqueyana*; Si, subsp. *sintensisii*; ViC, subsp. *viridiflora* from central Cuba; ViE, subsp. *viridiflora* from eastern Cuba) followed by an experimental number.



Figure 4. Optimal number of clusters with Mantel correlation from different levels of the cut of dendrogram of Ward's minimum variance clustering on Gower's distance matrix for qualitative and quantitative morphological traits.

2.3.2 Genetic results

Results from the genetic species delimitation suggested the presence of 4 species, as this is the scenario that received the highest posterior probability (PP=0.49; Figure 5A). Scenarios with 3 and 5 species received support of 0.26 and 0.25, respectively. The delimited species that received the highest support were *G. viridiflora* subsp. *acrochordonanthe* with posterior probability of 0.99281 (Figure 5B). The other species delimitations were less clear at the genetic level. The uncertainties come from two sources. First, there is equivocal support for a species composed of *G. viridiflora* subsp. *quisqueyana* + subsp. *sintensisii* (PP=0.51419). Indeed, the support for this grouping is only slightly higher than those of the two putative species considered alone (PP of 0.43793 and 0.42891). Second, support is low for the species that correspond to subsp. *viridiflora* (PP=0.61) and to the individuals of subsp. *acrochordonanthe* from the Massif de la Hotte (PP=0.55). This is because these two groups are also sometimes combined in a single species with weak support (PP=0.39). No other species delimitation received a posterior probability above 0.04.

The phylogenetic tree built with the species delimitation that received the highest support shows a monophyletic *G. viridiflora* group with a posterior probability of 0.7349 (Figure 5C). *Gesneria viridiflora* subsp. *quisqueyana* + subsp. *sintensisii* formed the most supported group with posterior probability of 0.845. The putative species *G. viridiflora* subsp. *viridiflora* + subsp. *acrochordonanthe* of Massif de la Hotte also form a slightly supported clade (PP=0.6781). Finally, the results suggest that *G. viridiflora* subsp. *acrochordonanthe* is more closely related to the group of subspecies *quisqueyana* + *sintensisii* (PP=0.5839) than to the individual from the

Massif de la Hotte and subspecies *viridiflora*. Single gene trees are available in Annexe 6 (Figure 9 to Figure 12).

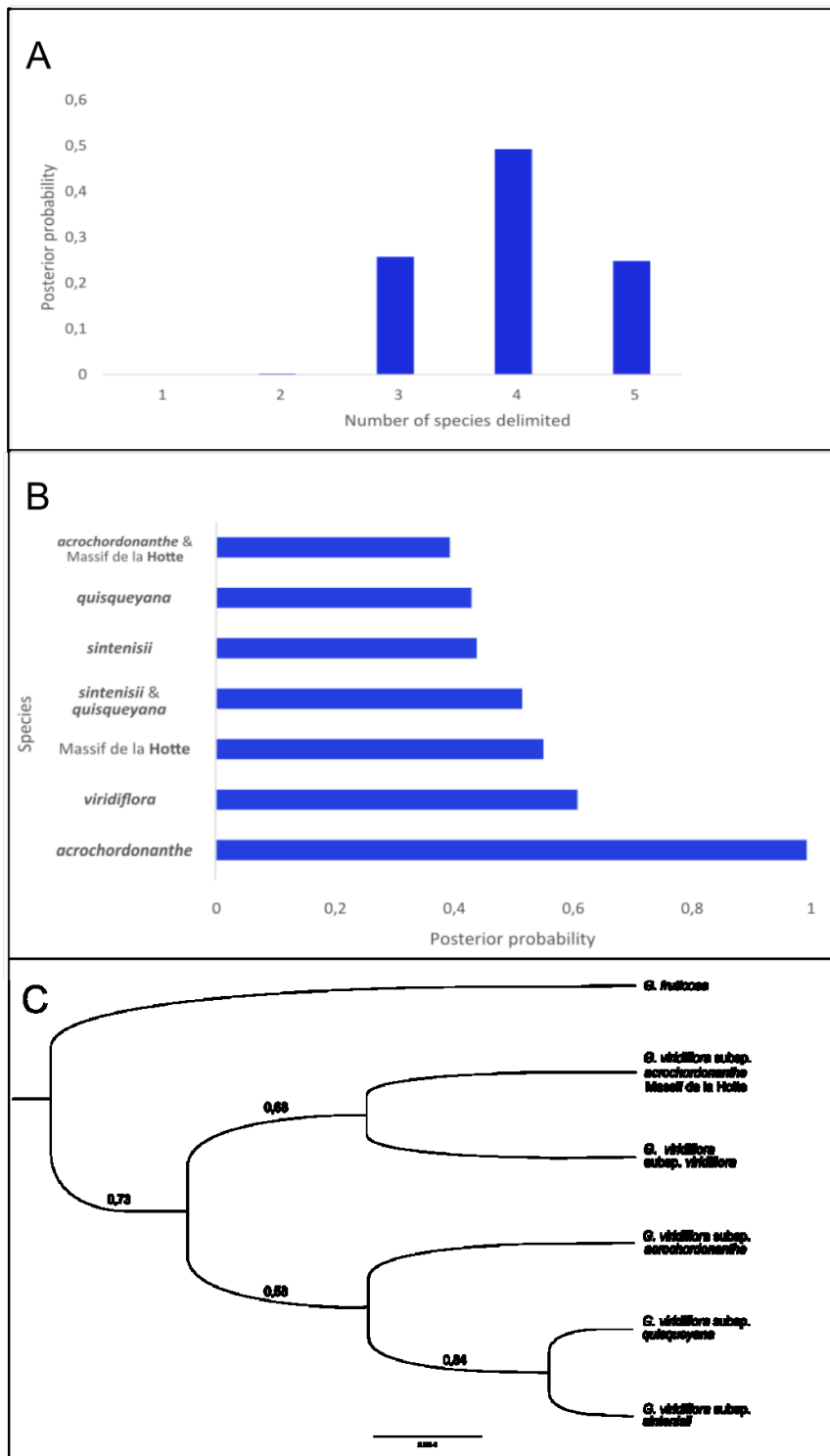


Figure 5. Summary of results obtained with BPP using genetic data. A) Posterior probability for the number of species delimited. B) Posterior probability for each putative species and combination of putative species with values higher than 0.04. C) Phylogeny inferred from the optimal species delimitation for 5 species. Number on branches are the posterior probability for subtended clade.

2.3.3 Bioclimatic results

The first three principal components (PC) of the PCA (Figure 6) accounted for 90.70% of the total variance. The first PC is mainly characterized by rainfall and seasonality, the second by mean temperature and annual bioclimatic variables, and the third by variation in rainfall (Figure 8). The first three PCs distinguished the four groups delimited with morphological analyses (Figure 6). The group that corresponds to *G. viridiflora* subsp. *acrochordonanthe* is separated along PC2 and PC3 (Figure 6B). The group that corresponds to subspecies *quisqueyana* is also distinct and located at the bottomleft in the ordination of PC1 and PC3 (Figure 6B). The group that corresponds to subspecies *sintensisii* is located at the bottom-right of the ordination of PC1 and PC2 (Figure 6A). Finally, the group that corresponds to *G. viridiflora* subsp. *viridiflora* is located on the top in the ordination of PC1 and PC3 (Figure 6B), together with the occurrences of *G. viridiflora* subsp. *acrochordonanthe* from the Massif de la Hotte.

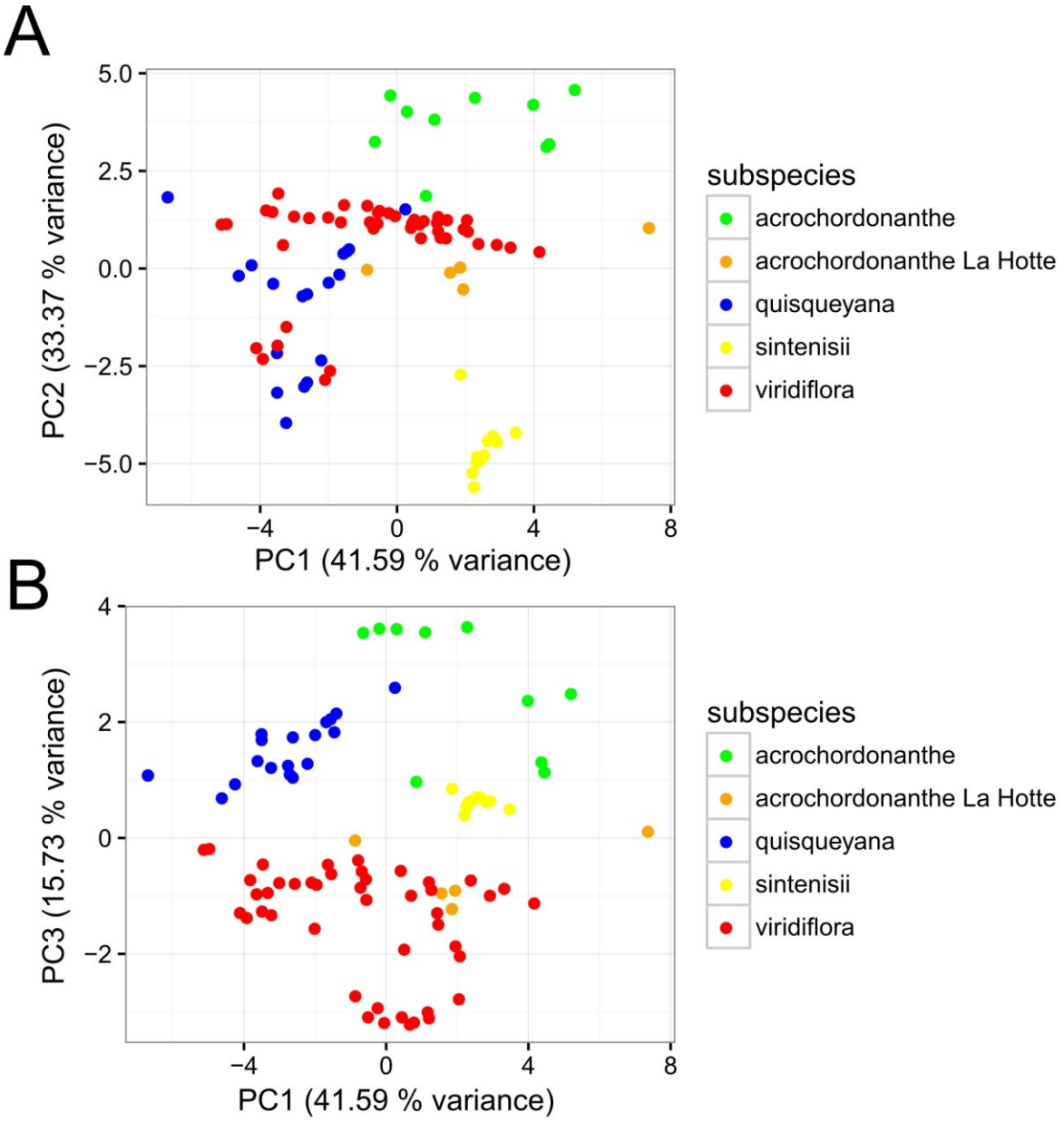


Figure 6. Principal components analysis (PCA) of occurrences and bioclimatic variables values at the occurrences. A) plot of PC1 and PC2. B) plot of PC1 and PC3.

2.4 Discussion

Five groups of specimens were found to be distinct according to at least one source of evidence among morphology, genetic and bioclimatic data. These five groups are considered to be evolving independently from each other and according to the unified species concept are considered to be distinct species. Under the previously accepted taxonomy, these species correspond to *G. viridiflora* subsp. *acrochordonanthe* (except for the populations from the Massif de la Hotte), populations of subsp. *acrochordonanthe* from Massif de la Hotte, subsp. *quisqueyana*, subsp. *sintensisii* and subsp. *viridiflora*. These decisions are explained in detail below.

The group that consists of *G. viridiflora* subsp. *acrochordonanthe* excluding the populations from the Massif de la Hotte forms a morphologically distinctive group from subsp. *quisqueyana*, subsp. *sintensisii* and subsp. *viridiflora*. This group is also strongly supported by genetic data and has a bioclimatic niche distinctive from the other taxa. According to these results, this group clearly forms a distinct evolutive lineage that satisfies the criteria of a distinct species. If we exclude the populations from the Massif de la Hotte from this species, which is what the data suggest, then we cannot name this species *G. acrochordonanthe* because the type of this species is from the Massif de la Hotte. The correct name for this group is *G. sylvicola* Alain, which is currently considered a synonym of *G. viridiflora* subsp. *quisqueyana*. However, *G. sylvicola* has a description and geographic range that corresponds to the group delimited here and not to subspecies *quisqueyana*. It is also important to point out that *G. denticulata* Alain should be

considered a synonym of *G. sylvicola* (Table III) as its morphological description is too slightly different from that of *G. sylvicola* given that the two taxa cover the same geographic area.

The group actually accepted as *G. viridiflora* subsp. *quisqueyana* from the northern Dominican Republic forms a morphologically and bioclimatically distinct. The same conclusions are also true for the actual subsp. *sintensisii* from Puerto Rico. In contrast, the genetic species delimitation was equivocal regarding the distinctiveness of these two groups. Because the two groups have distinct morphologies, different bioclimatic niches, different pollination strategies (subsp. *sintensisii* is pollinated by bats and hummingbirds whereas subsp. *quisqueyana* is only pollinated by bats due to an active exclusion mechanism; Martén-Rodríguez et al. 2009), and that gene flow is clearly restricted because the two groups are on different islands, we believe that it is reasonable to recognize these as two distinct species evolving separately from each other. Because current gene flow is strongly restricted between these groups, the genetic affinities suggest a recent origin. The accepted name for the group endemic to northern Dominican Republic that corresponds to previous *G. viridiflora* subsp. *quisqueyana* is *Gesneria quisqueyana* Alain, and *G. subsp. quisqueyana* thus becomes a synonym (Table III). For the individuals from Puerto Rico currently known as *G. viridiflora* subsp. *sintensisii*, the accepted name is *Gesneria sintensisii* Urb.

The specimens currently identified as *G. viridiflora* subsp. *viridiflora* are distinct from other specimens according to all evidence considered in this studied and are thus considered a distinct species. Historically, many varieties have been described for this Cuban species (Morton, 1957). As noted above, Skog (1976) did not recognize these varieties, described according to leaf shape

variation, as these characters are strongly affected by environmental conditions. Similar conclusions were reached by Clark et al. (2013), who further noted that leaf shape varied extensively among and within populations. Despite these past conclusions, a particular attention was given in the morphological analyses to see whether the specimens of Cuban origin could be further divided into distinct morphological groups, but we could not find such evidence. In conclusion, all specimens from Cuba form a distinct evolutive lineage that belong to a single species, *Gesneria viridiflora* (Decne.) Kuntze.

Gesneria viridiflora subsp. *acrochordonanthe* from the Massif de la Hotte stood out as genetically distinct from other samples from Hispaniola, which forced us to consider it as a putatively distinct species. Morphologically, these populations were more similar to *G. sylvicola*. In contrast, these populations are genetically and bioclimatically more similar to *G. viridiflora* from Cuba despite their disjunction. Considering the strong genetic and bioclimatic distinctions from relative taxa in Hispaniola and the actual restricted gene flow with Cuban populations of *G. viridiflora*, we consider the populations of the Massif de la Hotte as an independently evolving lineage and thus as a distinct species. The accepted name for populations from Massif de la Hotte is *Gesneria acrochordonanthe* (L.E. Skog) Borhidi. The populations of this species are actually threatened in the Massif de la Hotte mountain range in southwestern Haiti where the habitat has been severely degraded due to massive deforestation in the last few decades. The last remnants of primary forests are found in Pic Macaya National Park and surrounding mountains west of the park that are all threatened by deforestation for pastures, cultivation and charcoal production, even on the steeper slopes. Despite the presence

of a park, the socio-economic conditions prevailing in this region make the future of this endemic species very uncertain.

Gesneria acrochordonanthe is a good example supporting the hypothesis of the floristic distinctness of the Massif de la Hotte compared to the rest of the Hispaniola. Also, it supports previous studies emphasizing the floristic similarities between the region of the Massif de la Hotte and eastern Cuban (Ekman, 1926; 1928; Dod, 1984; Judd, 1984; Majure et al. 2014). It is not known whether the region of the Massif de la Hotte was ever joined with the Sierra Maestra in Cuba, but it is likely that Massif de la Hotte was isolated from the rest of Hispaniola for a time sufficiently long to lead to the evolution of a different flora maintaining affinities with the eastern Cuba flora (Dod, 1984).

The genetic results and the phylogeny demonstrate that *G. quisqueyana* and *G. sintenisii* are closely related genetically despite the geographic isolation of the two species. A Fitch optimization (Fitch, 1977) of ancestral areas supports that the ancestor of these species was from Hispaniola, suggesting a recent migration from Hispaniola to Puerto Rico. The Fitch optimization also supports an ancestor on Hispaniola for the *G. viridiflora* complex, although alternative solutions, such as a Cuban origin, cannot be completely ruled out. An origin on Hispaniola would imply allopatric speciation within Hispaniola as well as migrations to Cuba and Puerto Rico. Species of the *G. viridiflora* complex are all allopatric, being isolated from each other by mountain ranges or by the sea. The endemism is often very localised, such as with *G. acrochordonanthe* from the Massif de la Hotte and *G. sintenisii* from the Sierra de Luquillo in Puerto Rico (Figure 7). This leads us to think that there may be more endemism than

previously thought in Caribbean Gesneriaceae. It also highlights the importance of protecting many local habitats within the Caribbean biodiversity hotspot, but even more the difficulties in protecting this biodiversity.

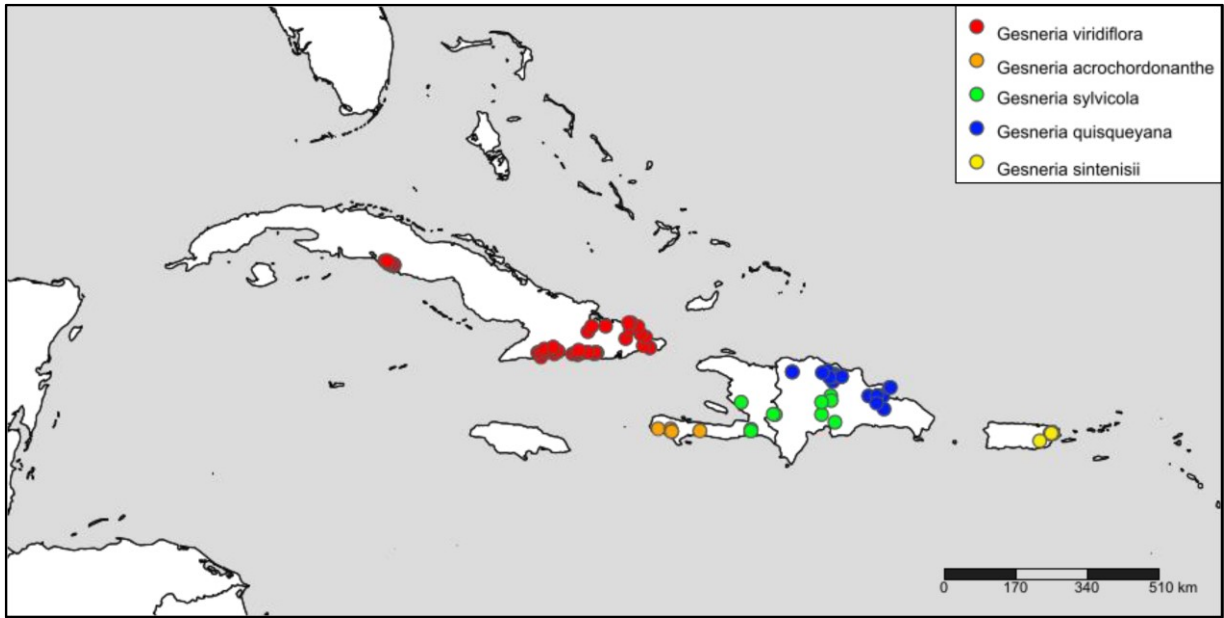


Figure 7. Distribution map of taxa. Created with SimpleMappr at <http://www.simplemappr.net>

Table III. New taxonomy including accepted names and synonyms of the taxa in the *Gesneria viridiflora* complex

Accepted names	Synonyms
<i>Gesneria quisqueyana</i> Alain	<i>Gesneria sintenisii</i> subsp. <i>quisqueyana</i> (Alain) Borhidi <i>Gesneria viridiflora</i> subsp. <i>quisqueyana</i> (Alain) L.E.Skog
<i>Gesneria sintenisii</i> Urb.	<i>Duchartrea sintenisii</i> Britton <i>Gesneria viridiflora</i> subsp. <i>sintenisii</i> (Urb.) L.E.Skog
<i>Gesneria sylvicola</i> Alain	<i>Gesneria denticulata</i> Alain
<i>Gesneria viridiflora</i> (Decne.) Kuntze	<i>Duchartrea viridiflora</i> Decne. <i>Gesneria viridiflora</i> var. <i>acutifolia</i> C.V.Morton <i>Gesneria viridiflora</i> var. <i>colorata</i> C.V.Morton <i>Gesneria viridiflora</i> subsp. <i>colorata</i> (C.V.Morton) Borhidi <i>Gesneria viridiflora</i> var. <i>obovata</i> C.V.Morton <i>Gesneria viridiflora</i> (Decne.) Kuntze subsp. <i>viridiflora</i> L.E.Skog <i>Pentaraphia viridiflora</i> (Decne.) Hanst.
<i>Gesneria acrochordonanthe</i> (L.E.Skog) Borhidi	<i>Gesneria viridiflora</i> subsp. <i>acrochordonanthe</i> L.E.Skog

Identification key:

1. Corolla lobes margins smooth or denticulate. Peduncles (9-)12-22 cm long, pedicels 3-9(-11) mm long, flowers (2-)6-13(-18) per inflorescence. Calyx lobes filiform, 0.25-0.75 mm wide at apex. Calyx slightly verrucose; verrucae 0.15-0.3 mm wide.

2. Abaxial leaf surface pale green, leaf margins denticulate, leaves subcoriaceous, corolla lobes margin smooth, corolla greenish-yellow colored. Eastern Puerto Rico.

Gesneria sintenisii

2. Abaxial leaf surface reddish, leaf margins serrate, leaves coriaceous, corolla lobes margin denticulate, corolla white to reddish. Northern Dominican Republic.

Gesneria quisqueyana

1. All corolla lobes or only upper corolla lobes margins fimbriate. Peduncles (4-)8-12(-25) cm long, pedicels (2-)8-12(-22) mm long, flowers 2-5 per inflorescence. Calyx lobes thick, 0.75-1.5 mm wide at apex. Calyx markedly verrucose; verrucae 0.2-0.8 mm wide.

2. Abaxial leaf surface brown, abundantly resinous, leaf margins serrulate; corolla slightly resinous, brownish to yellow-green outside, upper corolla lobes slightly frimbriate; calyx lobes curved apically outwards, apex not swollen apically ; central Hispaniola (southeast and central Haiti to central Dominican Republic).

Gesneria sylvicola

2. Abaxial leaf surface pale green, slightly resinous, leaf margins serrate to serrulate; corolla distinctly resinous, dark reddish to yellow with reddish spots outside, upper or

all corolla lobes fimbriate; calyx lobes straight or curved apically inwards, apex thickened or not; western Hispaniola or Cuba.

3. All corolla lobe margin frimbriate, leaf margins serrate, corolla yellow with reddish spots to dark red, calyx lobes apex thickened. central and eastern Cuba.

Gesneria viridiflora

3. Upper corolla lobe margin fimbriate, leaf margins serrulate, corolla dark red, calyx lobes apex not thickened. Massif de la Hotte, Haiti.

Gesneria acrochordonanthe

3. Conclusion

En suivant une approche de taxonomie intégrative incluant les aspects morphologiques, génétiques et bioclimatiques, il a été possible de procéder à une délimitation d'espèces éclairée dans le complexe de *Gesneria viridiflora*. Avant de procéder à ces travaux sur la caractérisation et la délimitation d'espèces chez *G. viridiflora*, cette espèce était sous-divisée en quatre sous-espèces (subsp. *acrochordonanthe*, subsp. *quisqueyana*, subsp. *sintenisii* et subsp. *viridiflora*) géographiquement disjointes retrouvées dans l'ensemble des Grandes Antilles (sauf la Jamaïque). À la lumière des résultats obtenus, les sous-espèces *quisqueyana*, *sintenisii* et *viridiflora* ont dorénavant le statut d'espèce. Quant à la sous-espèce *acrochordonanthe*, excluant les populations du Massif de la Hotte, les populations obtiennent aussi le statut d'espèce, sous le nom *G. sylvicola*. Les populations de *G. viridiflora* subsp. *acrochordonanthe* du Massif de la Hotte obtiennent le statut d'espèce sous le nom de *G. acrochordonanthe*. L'ensemble des résultats et des conclusions formulées démontre l'importance de procéder à une délimitation d'espèces dans une approche de taxonomie intégrative où différents aspects importants de la spéciation sont analysés, particulièrement dans un complexe d'espèces morphologiquement variables. Le tableau de la taxonomie acceptée (Table III) pour les espèces délimitées dans cette étude résume bien les décisions taxonomiques qui ont été prises suite aux résultats obtenus et offre une perspective claire de la taxonomie acceptée pour les chercheurs et les gestionnaires de bases de données sur la biodiversité.

La caractérisation morphologique de ces espèces a permis de bien différencier morphologiquement les taxons définis et d'ainsi élaborer une clé d'identification suffisamment détaillée pour distinguer les espèces qui présentent des similarités morphologiques telles qu'on

peut les observer sur des spécimens d'herbier. La délimitation génétique des espèces a permis de mieux cerner les limites d'espèces entre les différents taxons et de mettre en évidence la distinction des populations du Massif de la Hotte. L'analyse des niches bioclimatiques des espèces permet de mieux comprendre l'importance de l'écologie dans la spéciation et d'appuyer les distinctions taxonomiques même lorsque les taxons semblent partager des exigences bioclimatiques similaires a priori. Ce type d'analyse a permis de recenser toutes les occurrences connues des espèces étudiées et de produire une carte de répartition géographique à jour (Figure 7) qui sera utile aux chercheurs, tout comme à la population locale intéressée, qui chercherait à connaître la localisation des habitats propices et pour éviter la confusion taxonomique avec des espèces similaires retrouvées sur d'autres îles ou d'autres montagnes.

La reconnaissance taxonomique d'un plus grand nombre d'espèces a des conséquences non-négligeables sur la conservation et la recherche sur la biodiversité. Dans les recherches sur la biodiversité, comme l'espèce est une unité de base largement utilisée, les résultats d'études écologiques ou floristiques considérant la richesse spécifique sont influencés par les connaissances des taxons et le nombre d'espèces. En conservation, lorsque de nouvelles espèces endémiques sont reconnues, cela augmente la richesse spécifique d'une région où l'on retrouve souvent bien d'autres espèces endémiques à cause de conditions écologiques précises ou d'opportunités évolutives qui ont eu lieu dans le passé. Ces régions couvrent une superficie géographique souvent limitée, ce qui implique qu'elles sont particulièrement vulnérables aux perturbations humaines et climatiques qui peuvent avoir lieu. D'un point de vue social, la reconnaissance d'espèces endémiques crée un sentiment d'importance et d'appartenance par la population humaine de la région ou du pays qui prend davantage à cœur le maintien et la

conservation d'espèces endémiques, puisqu'elles sont uniques et qu'on ne les retrouve pas ailleurs. Par exemple, *G. sintenisii* n'est retrouvée que dans les montagnes de l'est de Porto Rico, notamment à El Yunque National Forest, et la reconnaissance de ce taxon comme une espèce augmente le nombre d'espèces endémiques propres à ce lieu protégé et appuie positivement les nombreux efforts de conservation qui sont déjà mis en places par les autorités locales et internationales.

Gesneria quisqueyana, que l'on trouve au nord de la République Dominicaine principalement dans la Cordillera Septentrional, est rencontrée dans diverses régions boisées et dans des aires protégées. L'existence de nombreuses espèces uniques à cette région permet de confirmer l'importance des efforts entrepris par la République Dominicaine pour la protection des milieux naturels. La même affirmation peut être faite quant au *G. viridiflora* qu'on retrouve notamment au Parque Nacional Turquino et au Gran parque natural Topes de Collantes à Cuba où des efforts de conservation ont cours depuis longtemps.

Gesneria sylvicola est une espèce peu connue retrouvée plutôt au centre d'Hispaniola, en Haïti et en République Dominicaine, à travers les îlots de forêts de nuages d'altitude. L'espèce n'est pas particulièrement connue dans des aires protégées en République Dominicaine, alors qu'on la trouve en petit nombre le long de cascades et rivières au Parc National La Visite en Haïti. On peut croire qu'à long terme, la survie des populations de cette espèce serait en jeu si la végétation existante n'était pas conservée au Parc National La Visite et si aucune aire protégée n'était créée dans les îlots de forêts de nuages des montagnes du centre de la République Dominicaine.

Quant au *G. acrochordonanthe*, la reconnaissance d'une espèce endémique au Massif de la Hotte, une chaîne de montagne de petite superficie géographique en Haïti, accentue l'unicité de la biodiversité qu'on retrouve en ces lieux qui comptent aujourd'hui une très petite superficie

de forêts préservées limitée surtout au Parc National Pic Macaya. Les populations éparses et limitées qui existeraient chez *G. acrochordonanthe* sont un élément limitant à une meilleure connaissance de ce taxon. Lors des travaux de recherche sur le terrain au Parc National Pic Macaya en mai 2014, la dégradation de l'habitat était telle qu'aucune population de *G. acrochordonanthe* n'a été retrouvée sur les lieux. Nous avons constaté que ce parc national est insuffisamment protégé et la déforestation des lieux par les populations locales menace de détruire complètement l'habitat de forêt de nuages de ce parc et par association les populations de *G. acrochordonanthe* ainsi que les nombreuses espèces de plantes et d'animaux endémiques à cette mince région riche en biodiversité. Le Massif de la Hotte est reconnu comme étant la région d'Hispaniola ayant le plus fort taux d'endémisme d'espèces végétales (Timyan, 2011). En augmentant les connaissances sur la biodiversité de cette région, on contribue indirectement à la conservation de celle-ci, parce que naturellement l'on protège ce qu'on aime et on aime ce qu'on connaît.

Des études plus poussées sur l'endémisme, l'origine et les affinités de la flore du Massif de la Hotte par rapport à la flore de la Sierra Maestra à Cuba sont essentielles afin de confirmer ou réfuter les hypothèses qui ont été émises par les différents explorateurs du Massif de la Hotte qui est et demeure sous-exploré depuis les premières explorations par Erik L. Ekman au début du XXe siècle. Les résultats de la délimitation d'espèce ont démontré qu'il peut y avoir une diversité et un endémisme sous-estimé dans le genre *Gesneria*. Les limites d'espèces dans le genre *Gesneria* où de nombreuses espèces sont peu récoltées et peu connues et au sein d'autres groupes taxonomiques reste toujours à être évaluées si l'on tient à maintenir une connaissance de la biodiversité qui compose le point chaud en biodiversité des Antilles.

Bibliographie

- Becker, R. A., & Wilks, A. R. (1993). Maps in S. *AT\ &T Bell Laboratories Statistics Research Report [93.2]*.
- Bivand, R., Keitt, T., Rowlingson, B., Pebesma, E., Sumner, M., Hijmans, R., & Rouault, E. (2015). *rgdal: Bindings for the Geospatial Data Abstraction Library*. Consulté février 22, 2016, à l'adresse <https://cran.r-project.org/web/packages/rgdal/index.html>
- Bohonak, A. J. (1999). Dispersal, Gene Flow, and Population Structure. *The Quarterly Review of Biology*, 74(1), 21-45.
- Borcard, D., Gillet, F., & Legendre, P. (2011). *Numerical ecology with R*. Springer Science & Business Media.
- Borhidi, A. (1975). *Gesneria viridiflora* (Decne.) Kuntze subsp. *colorata* (C.V. Morton) Borhidi. *Botanikai Közlemenyek*. 62, 27.
- Borhidi, A. (1979). *Gesneria sintenisii* Urb. subsp. *quisqueyana* (Alain) Borhidi. *Acta Botanica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 25, 35.
- Britton, N.L. & P. Wilson. (1925). *Duchartrea sintenisii* N. Britton. *Scientific Survey of Puerto Rico & Virgin Islands*. 6, 206.
- Brooks, T. M., Mittermeier, R. A., da Fonseca, G. A. B., Gerlach, J., Hoffmann, M., Lamoreux, J. F., Mittermeier, C. G., et al. (2006). Global Biodiversity Conservation Priorities. *Science*, 313(5783), 58-61.

- Brown, C. M., Arbour, J. H., & Jackson, D. A. (2012). Testing of the Effect of Missing Data Estimation and Distribution in Morphometric Multivariate Data Analyses. *Systematic Biology*, 61(6), 941-954.
- Campbell, D. G. & H. D. Hammond. (1989). Floristic inventory of tropical countries: the status of plant systematics, collections, and vegetation, plus recommendations for the future. The New York Botanical Garden.
- Clark, J., Matos, J., Suárez, T., Ginzburg, S., & Skog, L. (2013). An annotated species list for the Gesneriaceae of Cuba. (Vol. 31, p. 186-227). Présenté à Selbyana, Selby Botanical Gardens Press.
- Colon, J. C. F. (1996). Phytogeographical Trends, Centers of High Species Richness and Endemism, and the Question of Extinctions in the Native Flora of Puerto Rico. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 776(1), 89-102.
- De Queiroz, K. (2007). Species Concepts and Species Delimitation. *Systematic Biology*, 56(6), 879-886.
- Decaisne, J. (1846). Duchartrea viridiflora Decne. *Annales de Sciences Naturelles Botanique, ser. 3*, 6, 109.
- Dod, D. D. (1984). Massif de la Hotte, isla peculiar: orquídeas nuevas iluminan su historia. *Moscoso*, 3, 91-99.
- Donoghue, M. J. (1985). A Critique of the Biological Species Concept and Recommendations for a Phylogenetic Alternative. *The Bryologist*, 88(3), 172-181.
- Drummond, A. J., Ashton, B., Buxton, S., Cheung, M., Cooper, A., Duran, C. & Moir, R. (2011). Geneious v5. 4.

- Drummond, A. J., Suchard, M. A., Xie, D., & Rambaut, A. (2012). Bayesian Phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, 29(8), 1969-1973.
- Ekman, E. L. (1926). *Botanizing in Haiti*. US Government Printing Office.
- Ekman, E. L. (1928). A botanical excursion in La Hotte, Haiti. *Svensk. Bot. Tidskr*, 22, 200-219.
- Fitch, W. M. (1977). On the problem of discovering the most parsimonious tree. *American Naturalist*, 223-257.
- Gower, J. C. (1971). A General Coefficient of Similarity and Some of Its Properties. *Biometrics*, 27(4), 857-871.
- Groombridge, B., & Jenkins, M. (2002). *World atlas of biodiversity: earth's living resources in the 21st century*. Univ of California Press.
- Hamilton, L. S. (1995). Mountain Cloud Forest Conservation and Research: A Synopsis. *Mountain Research and Development*, 15(3), 259-266.
- Hanstein, J.L.E.R. von. (1865). *Pentarraphia viridiflora* (Decne.) Hanst. *Linnaea* 34, 306.
- Hijmans, R. J., Cameron, S. E., Parra, J. L., Jones, P. G., & Jarvis, A. (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International journal of climatology*, 25(15), 1965-1978.
- Huelsenbeck, J. P., & Ronquist, F. (2001). MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 17(8), 754-755.
- Joly, S., Lambert, F., Alexandre, H., Lévillé-Bourret, É., & Clark, J. L. (2016). Pollinator specialization imposes stronger evolutionary constraints on flower shape. bioRxiv. Available at [dx.doi.org/10.1101/041533](https://doi.org/10.1101/041533). Accessed February 28 2016.
- Judd, W. S. (1987). Floristic study of Morne la Visite and Pic Macaya national parks, Haiti. *Bull. Florida State Mus., Biol. Sci*, 32(1), 1-136.

- Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K., & Miyata, T. (2002). MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*, 30(14), 3059-3066.
- Kuntze, C.E.O. (1891). *Gesneria viridiflora* (Decne.) Kuntze. *Revisio Generum Plantarum*. 2, 473.
- Legendre, P., & Legendre, L. F. (2012). *Numerical ecology* (Vol. 24). Elsevier.
- Liogier, A.H. (1971). *Gesneria quisqueyana* Alain. *Memoirs of the New York Botanical Garden*. 21(2), 147.
- Liogier, A.H. (1973). *Gesneria sylvicola* Alain. *Phytologia*. 25, 276.
- Majure, L. C., Judd, W. S., Ionta, G. M., Skean, J. D., Bécquer, E. R., & Neubig, K. M. (2014). *Miconia cineana* (Melastomataceae: Miconieae), a New Species from the Massif de la Hotte, Haiti, Based on Morphological and Molecular Evidence. *Systematic Botany*, 39(3), 906-914.
- Mallet, J. (1995). A species definition for the modern synthesis. *Trends in Ecology & Evolution*, 10(7), 294-299.
- Martén-Rodríguez, S., Almarales-Castro, A., & Fenster, C. B. (2009). Evaluation of pollination syndromes in Antillean Gesneriaceae: evidence for bat, hummingbird and generalized flowers. *Journal of Ecology*, 97(2), 348–359.
- Martén-Rodríguez, S., & Fenster, C. B. (2008). Pollination Ecology and Breeding Systems of Five *Gesneria* Species from Puerto Rico. *Annals of Botany*, 102(1), 23-30.
- Martén-Rodríguez, S., Fenster, C. B., Agnarsson, I., Skog, L. E., & Zimmer, E. A. (2010). Evolutionary breakdown of pollination specialization in a Caribbean plant radiation. *New Phytologist*, 188(2), 403–417.

- Mayden, R. L. (1997). A hierarchy of species concepts: the denouement in the saga of the species problem. In M. F. Claridge, H. A. Dawah, & M. R. Wilson (Éd.), *Species: The units of diversity*, (p. 381–423). Chapman and Hall.
- Mayden, R. L. (1999). Consilience and a hierarchy of species concepts: advances toward closure on the species puzzle. *Journal of Nematology*, 31(2), 95.
- Mayr, E. (1942). *Systematics and the origin of species, from the viewpoint of a zoologist*. Harvard University Press.
- Mayr, E. (1996). What Is a Species, and What Is Not? *Philosophy of Science*, 63(2), 262-277.
- Mittermeier, J. Lamoreux & G.A.B. da Fonseca (2004). *Hotspots Revisited: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Ecoregions*. Mexico City (Mexico): CEMEX, 392pp.
- Morton, C. V. (1957). Some West Indian Gesneriaceae. *Brittonia*, 9(1), 18-24.
- Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., Fonseca, G. A. B. da, & Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403(6772), 853-858.
- Paradis, E., Claude, J., & Strimmer, K. (2004). APE: Analyses of Phylogenetics and Evolution in R language. *Bioinformatics*, 20(2), 289-290.
- Paryski, P., Woods, C., & Sergile, F. (1989). Conservation strategies and the preservation of biological diversity in Haiti. *Biogeography of the West Indies: Past, Present, Future*. Sandhill Crane Press, Gainesville, FL, 855-878.
- R Core Development Team (2012). R 2.15. 2: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rios, N., & Bart, H. (2010). GEOLocate (Version 3.22) computer software. Tulane University Museum of Natural History, Belle Chasse, LA.

- Roalson, E. H., Skog, L. E., & Zimmer, E. A. (2008). Untangling Gloxinieae (Gesneriaceae). II. Reconstructing Biogeographic Patterns and Estimating Divergence Times Among New World Continental and Island Lineages. *Systematic Botany*, 33(1), 159-175.
- Sites Jr, J. W., & Marshall, J. C. (2003). Delimiting species: a Renaissance issue in systematic biology. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(9), 462-470.
- Skog, L. E. (1976). *Study of the tribe Gesnerieae, with a revision of Gesneria (Gesneriaceae: Gesnerioideae)*. Smithsonian contributions to botany;no. 29. Washington: Smithsonian Institution.
- Skog, L.E. & J.K. Boggan. (2007). *World Checklist of Gesneriaceae*. Washington, DC: Department of Botany, Smithsonian Institution. Website: botany.si.edu/gesneriaceae/checklist/ (consulté le 2015-12-20)
- Smith, J. F., Hileman, L. C., Powell, M. P., & Baum, D. A. (2004a). Evolution of GCYC, a Gesneriaceae homolog of CYCLOIDEA, within Gesnerioideae (Gesneriaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31(2), 765-779.
- Smith, M.L., S.B. Hedges, W. Buck, A. Hemphill, S. Inchaustegui, M.A. Ivie, D. Martina, M. Maunder, & J.F. Ortega (2004b). Caribbean Islands, pp.112–118. In: Mittermeier, R.A., P.R. Gil, M. Hoffmann, J. Pilgrim, T. Brooks, C.G.
- Sokal, R. R., & Crovello, T. J. (1970). The Biological Species Concept: A Critical Evaluation. *The American Naturalist*, 104(936), 127-153.
- The Plant List (2013). Version 1.1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/> (visité le 2015-12-17).
- Thioulouse, J., Chessel, D., Dole, S., & Olivier, J.-M. (1997). ADE-4: a multivariate analysis and graphical display software. *Statistics and computing*, 7(1), 75-83.

- Timyan, J. (2011). Les zones clés de la biodiversité d'Haïti. Société Audubon d'Haïti. Repéré à : audubonhaiti.org/wordpress/wp-content/uploads/2012/10/ZONES_CLES_DE_LA_BIOD_HAITI_FINAL.pdf (consulté le 2015-12-20)
- Urban, I. (1901). *Gesneria sintenisii* Urb. *Symbolae Antillanae*. 2, 375.
- Valen, L. V. (1976). Ecological Species, Multispecies, and Oaks. *Taxon*, 25(2/3), 233-239.
- Wade, M. J., & Goodnight, C. J. (s. d.). Perspective : the theories of Fisher and Wright in the context of metapopulations : when nature does many small experiments. *Evolution*, 52(6), 1537-1553.
- Wege, D.C., D. Ryan, N. Varty, V. Anadón-Irizarry & A. Pérez-Leroux (2010). *Ecosystem Profile: the Caribbean Islands Biodiversity Hotspot*. Washington, DC: Critical Ecosystem Partnership Fund, 153pp.
- Yang, Z., & Rannala, B. (2014). Unguided species delimitation using DNA sequence data from multiple loci. *Molecular Biology and Evolution*. Consulté à l'adresse <http://mbe.oxfordjournals.org/content/early/2014/10/01/molbev.msu279.abstract>
- Zhang, W., Ricketts, T. H., Kremen, C., Carney, K., & Swinton, S. M. (2007). Ecosystem services and dis-services to agriculture. *Special Section - Ecosystem Services and Agriculture Ecosystem Services and Agriculture*, 64(2), 253-260.
- Zimmer, E. A., Roalson, E. H., Skog, L. E., Boggan, J. K., & Idnurm, A. (2002). Phylogenetic relationships in the Gesnerioideae (Gesneriaceae) based on nrDNA ITS and cpDNA trnL-F and trnE-T spacer region sequences. *American Journal of Botany*, 89(2), 296
- Zink, R. M. (2004). The role of subspecies in obscuring avian biological diversity and misleading conservation policy. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 271(1539), 561-564.

Annexe 1. Liste des spécimens inclus dans l'analyse morphologique

Table IV. Information of herbarium specimens used in the morphological analyses

Experimental number	Country	Subnational division	Collector, collector number and herbarium
H12	Haiti	Sud	Ekman 7572 (US)
Ac1	Haiti	Ouest	Ekman H5728 (S)
Ac3	Dominican Republic	San José de Ocoa	Ekman H11645 (S)
Ac5	Dominican Republic	Independencia	Liogier et al. 14635 (NY)
Ac8	Dominican Republic	Concepción de La Vega	Liogier 11710 (NY)
Ac14	Dominican Republic	Independencia	Zanoni et al. 24953 (US)
Ac20	Haiti	Ouest	Axelrod & Tremblay 10634 (US)
Ac22	Haiti	Ouest	Judd & Skee 4427 (FLAS)
Ac24	Haiti	Ouest	Lambert & Joly 2014-028 (MT)
Ac25	Haiti	Ouest	Clark et al. 14522 (MT)
Qu1	Dominican Republic	Salcedo	García & Jiménez 4190 (S)
Qu2	Dominican Republic	Espaillet	Ekman 12577 (S)
Qu3	Dominican Republic	Santiago	Zanoni et al. 38307 (NY)
Qu5	Dominican Republic	Puerto Plata	Liogier 11866 (NY)
Qu7	Dominican Republic	Hato Mayor	Zanoni et al. 34210 (NY)
Qu8	Dominican Republic	Hato Mayor	Smith 10388 (NY)
Qu9	Dominican Republic	Samaná	Zanoni et al. 20753 (NY)
Qu11	Dominican Republic	Monte Plata	García et al. 653 (NY)
Qu13	Dominican Republic	Hato Mayor	Liogier & Liogier 24694 (NY)
Qu16	Dominican Republic	Puerto Plata	Liogier 15543 (NY)

Qu18	Dominican Republic	Hato Mayor	Marcano & Jiménez 5051 (NY)
Qu20	Dominican Republic	Monte Plata	Liogier & Liogier 18871 (NY)
Qu21	Dominican Republic	Puerto Plata	Talpey 34 (US)
Qu23	Dominican Republic	Samaná	Abbott 457 (US)
Qu24	Dominican Republic	Hato Mayor	Miller sn (US)
Qu26	Dominican Republic	Santiago	Zanoni et al. 38307 (US)
Qu31	Dominican Republic	Hato Mayor	Zanoni et al. 35942 (US)
Qu32	Dominican Republic	Hermanas Mirabal	Martén-Rodríguez & Velozo 1230 (US)
Qu33	Dominican Republic	Hato Mayor	Zanoni et al. 36183 (US)
Qu36	Dominican Republic	Puerto Plata	Jiménez 3728 (US)
Qu37	Dominican Republic	Santiago	Marcano & Jiménez 5131 (US)
Qu38	Dominican Republic	Hermanas Mirabal	Hahn et al. 400 (US)
Qu39	Dominican Republic	Santiago	Skog 1593 (US)
Qu40	Dominican Republic	Santiago	Zanoni et al. 40557 (US)
Qu41	Dominican Republic	Puerto Plata	Liogier 11204 (US)
Qu42	Dominican Republic	Hato Mayor	Zanoni et al. 35369 (US)
Qu43	Dominican Republic	Samaná	Zanoni et al. 24738 (US)
Qu46	Dominican Republic	Hato Mayor	Zanoni et al. 21179 (US)
Qu47	Dominican Republic	Hermanas Mirabal	Jiménez et al. 2131 (FLAS)
Qu50	Dominican Republic	Santiago	Liogier 15386 (NY) Holotype
Si1	Puerto Rico	Rio Grande	Knudsen & Ståhl 78 (S)
Si5	Puerto Rico	Naguabo	Axelrod & Axelrod 7503 (NY)

Si6	Puerto Rico	Rio Grande	Britton & Cowell 7601 (NY)
Si7	Puerto Rico	Rio Grande	Boom 10068 (NY)
Si10	Puerto Rico	Rio Grande	Boynton 8221 (NY)
Si11	Puerto Rico	Rio Grande	Boom 9792b (NY)
Si14	Puerto Rico	Naguabo	Britton & Cowell 2209 (NY)
Si15	Puerto Rico	Rio Grande	Lumer 1376 (NY)
Si16	Puerto Rico	Naguabo	Acevedo-Rodríguez et al. 4656 (US)
Si17	Puerto Rico	Rio Grande	Acevedo-Rodríguez et al. 6215 (US)
Si21	Puerto Rico	Rio Grande	Martén-Rodríguez 1252 (US)
Si23	Puerto Rico	Rio Grande	Sargent B131 (US)
Si24	Puerto Rico	Rio Grande	Schubert & Winters 401 (US)
Si26	Puerto Rico	Rio Grande	Talpey 23 (US)
Si27	Puerto Rico	Naguabo	Shafer 3527 (US)
Si28	Puerto Rico	Rio Grande	Clark et al. 13757 (MT)
ViC2	Cuba	Cienfuegos	Ekman 18521 (S)
ViC3	Cuba	Sancti-Spíritus	Ekman 18933 (S)
ViC6	Cuba	Sancti-Spíritus	Britton & Britton 5087 (NY)
ViC10	Cuba	Sancti-Spíritus	Morton 10308 (FLAS)
ViC11	Cuba	Sancti-Spíritus	Jack 8111 (NY)
ViE2	Cuba	Granma	Ekman 10342 (S)
ViE3	Cuba	Santiago de Cuba	Ekman 14811 (S)
ViE5	Cuba	Holguín	Ekman 3350 (S)
ViE8	Cuba	Granma	Ekman 8745 (S)
ViE9	Cuba	Santiago de Cuba	Ekman 8055 (S)
ViE11	Cuba	Santiago de cuba	Wright 354 (S)
ViE12	Cuba	Santiago de Cuba	Ekman 1538 (NY)
ViE17	Cuba	Santiago de Cuba	Léon et al. 9821 (NY)
ViE18	Cuba	Santiago de Cuba	Shafer 8949 (NY)
ViE19	Cuba	Santiago de Cuba	Hioram 2310 (NY)
ViE21	Cuba	Granma	Morton & Acuna 3627 (US)

ViE26	Cuba	Granma	Acuna & Darlington sn (US)
ViE27	Cuba	Santiago de Cuba	Figueras 2760 (US)
ViE28	Cuba	Santiago de Cuba	Figueras 2690 (US)
ViE29	Cuba	Santiago de Cuba	Léon 22389 (US)
ViE30	Cuba	Granma	Morton 9477 (US)

Annexe 2. Spécimens et séquences incluses dans les analyses génétiques

Table V. Voucher information and sequences included in genetic analyses

Taxon	Voucher	<i>CHI</i>	<i>F3H</i>	<i>GCYC</i>	<i>UF3GT</i>
<i>Gesneria viridiflora</i> subsp. <i>acrochordonanthe</i> L.E. Skog	Haiti, Sud, <i>Clark et al.</i> 14467 (UNA; MT)	X	X	X	
<i>Gesneria viridiflora</i> (Decne.) Kuntze	Cuba, Sancti-Spíritus, <i>Clark et al.</i> 10041 (UNA)	X		X	X
	Cuba, Granma, <i>Clark et al.</i> 10509 (UNA)	X	X	X	X
	Cuba, Granma, <i>Clark et al.</i> 10524 (UNA)		X	X	X
	Cuba, Granma, <i>Clark et al.</i> 10540 (UNA)		X	X	X
	Cuba, Guantánamo, <i>Clark et al.</i> 10561 (UNA)		X	X	X
<i>Gesneria sylvicola</i> Alain	Haiti, Ouest, <i>Lambert & Joly</i> , 2014-027 (MT)	X	X	X	X
	Haiti, Ouest, <i>Lambert & Joly</i> , 2014-028 (MT)	X	X	X	X
	Dominican Republic, Independencia, <i>Martén-Rodríguez & Clase</i> , 1241 (US)				X
	Dominican Republic, Independencia, <i>Hahn et al.</i> 447 (US)				X
	Dominican Republic, Independencia, <i>Hahn et al.</i> 440 (SRP)			X	
<i>Gesneria quisqueyana</i> Alain	Dominican Republic, Hermanas Mirabal, <i>Jestrow et al.</i> 2013-DR-73 (FTBG)			X	
	Dominican Republic, Hermanas Mirabal, <i>Jestrow et al.</i> 2013-DR-73 (FTBG)		X	X	
	Dominican Republic, Hermanas Mirabal, <i>Jestrow et al.</i> 2013-DR-73 (FTBG)		X	X	X

	Dominican Republic, Monte Plata, <i>Hahn et al.</i> 454 (SRP)		X		
	Dominican Republic, Hermanas Mirabal, <i>Martén-Rodríguez & Velozo</i> , 1230 (US)			X	
<i>Gesneria sintenisii</i> Urb.	Puerto Rico, Rio Grande, <i>Clark</i> , 13757 (UNA; MT)	X	X	X	X
	Puerto Rico, Luquillo, <i>Martén-Rodríguez</i> 1252 (US)			X	X
	Puerto Rico, Caguas, <i>Monsegur-Rivera & Sanchez</i> , 863 (US)			X	X

Annexe 3. Caractères morphologiques significatifs

Table VI. Correlation of morphological characters with each of the three first axes of the PCoA and significance of the correlation. Values of p-value in bold represent significant p-values. *P-values significant after Sadok correction for 117 samples (n=117).

Character	r ²	p-value	r ²	p-value	r ²	p-value
	Axis1		Axis2		Axis3	
LeavAbaCol	0.87746	2.00E-16*	0.85273	2.00E-16*	0.66206	2.00E-16*
CalLobVer	0.76619	2.20E-16*	0.094331	0.007773	0.045891	0.06684
CalVer	0.72004	2.20E-16*	0.044050	0.07269	0.031343	0.1313
CalLobApex	0.66662	1.45E-06*	0.11918	0.0111	0.019126	0.504
VerWid	0.55532	1.78E-14*	0.097943	0.006261	0.069111	0.02269
CalLobApexThick	0.54112	8.35E-14*	0.20070	6.27E-05*	0.041204	0.08282
CapVer	0.52282	3.47E-13*	0.28863	8.01E-07*	0.0080635	0.4467
FlwNb	0.40459	6.65E-10*	0.0087775	0.4208	0.014878	0.2939
PediLen	0.39974	9.02E-10*	0.088304	0.009139	0.0060460	0.5044
CalLobApexWid	0.39909	1.59E-09*	0.183976	1.373E-4*	1.0682E-4	0.9304
CalLobLen	0.38169	4.52E-09*	0.0076007	0.4601	0.0346115	0.1125
CapLen	0.28392	1.02E-06*	0.00039873	0.8659	0.10443	0.00498
PedLen	0.26358	2.11E-06*	0.0034859	0.6124	0.0010665	0.7794
PedVer	0.25598	3.13E-06*	0.037474	0.09383	0.052997	0.04543
CapWid	0.22788	1.71E-05*	0.0068745	0.4825	0.087508	0.0105
PetLen	0.21937	1.98E-05*	0.057261	0.03735	0.0042387	0.5763
PedRes	0.17574	0.0001638*	0.12988	0.001384	0.23667	8.36E-06*
LeavApex	0.13384	0.00528	0.49113	1.96E-11*	0.062244	0.0959
PetRes	0.10683	0.003955	0.022964	0.1913	0.14646	6.452E-4
PedCol	0.079293	0.0137	0.035014	0.106	0.31872	1.09E-07*
LeavLen	0.075420	0.01636	0.072742	0.01847	0.016516	0.2686
LeavWidPt	0.064241	0.02716	0.027814	0.1499	0.00051260	0.8461
LeavShape	0.062325	0.0297	0.53155	0.0451	0.062126	0.0299
PetVer	0.058456	0.03537	0.14885	0.0005775	0.042681	0.07336
LeavMinVein	0.058178	0.0358	0.0010729	0.782	0.38565	2.16E-09*
CapRes	0.046282	0.0657	0.038277	0.09481	0.046012	0.06647
ApexRes	0.044877	0.066198	0.18762	9.30E-05*	0.042180	0.07511
LeavMTooS	0.020305	0.2195	0.14183	0.0007991	0.32079	9.68E-08*
LeavMarg	0.019839	0.481	0.74144	2.00E-16*	0.48072	4.09E-11*
CenVeinRes	0.016816	0.2642	0.044662	0.06686	0.23312	1.00E-05*
PedDiam	0.013596	0.3158	0.052425	0.04665	0.011242	0.362
LeavMainVein	0.0047206	0.556	0.54111	3.77E-14*	0.10620	0.00408
PetCol	0.0044016	0.568	0.00068273	0.820	0.12156	2.02E-03
CalLobBaseWid	0.0039027	0.597	0.067731	0.02513	0.016851	0.2703

CenVeinRes	0.0032428	0.6251	0.096336	0.006358	0.022265	0.1983
CorLeav	0.0023450	0.6778	0.74624	2.20E-16*	0.10766	0.003808
BarkCol	0.00031896	0.878	0.0014630	0.741	0.38600	2.11E-09*
LeavBase	0.00012758	0.928	0.20033	5.03E-05*	0.22893	1.23E-05*
LeavWid	8.0405E-08	0.9981	0.25714	2.95E-06*	0.025828	0.1655

Annexe 4. Bioclimatic variables on PCA

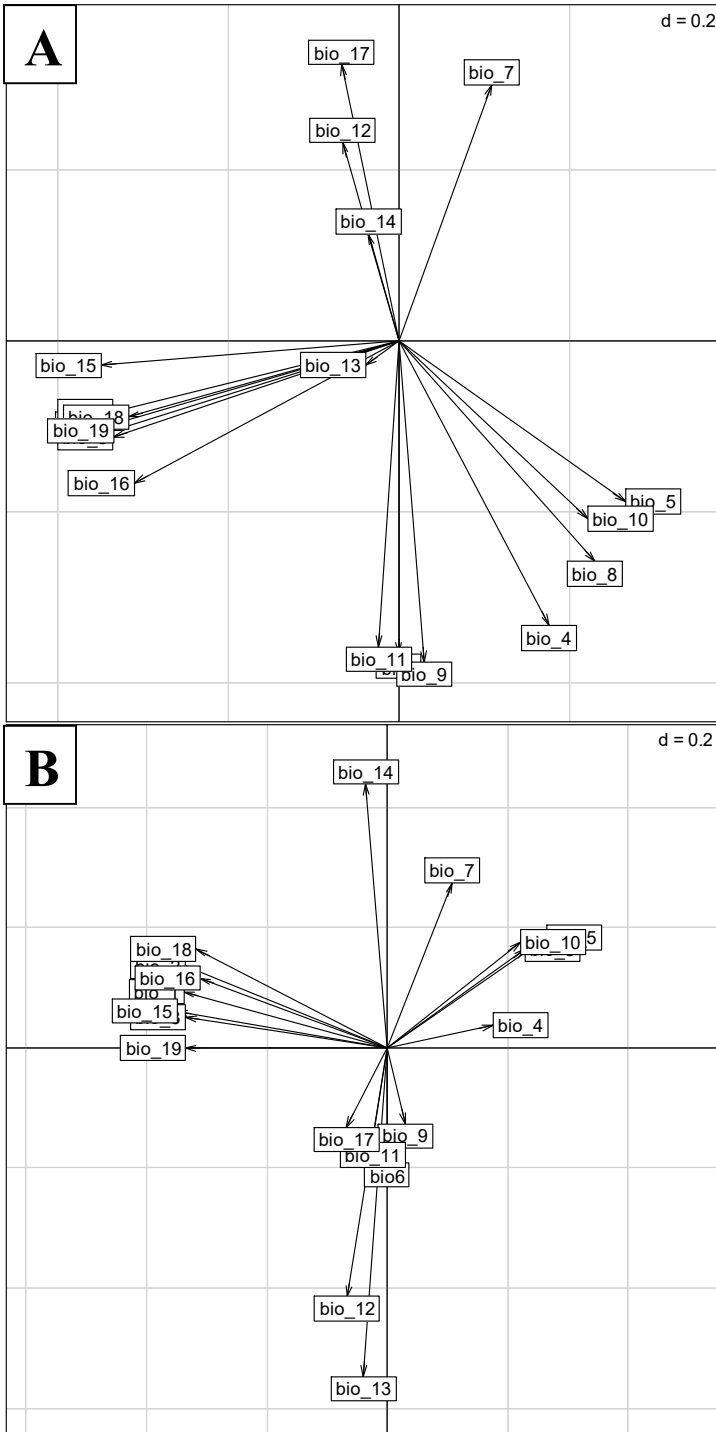


Figure 8. Graphic representation of bioclimatic variables along the three first axes of the PCA. A) Plot of axes of PC1 and PC2. B) Plot of axes of PC1 and PC3.

Annexe 5. Variables bioclimatiques utilisées

Table VII. Sigle and description of bioclimatic variables extracted from the online database WORLDCLIM

Sigle	Variable description
bio_1	Annual Mean Temperature
bio_2	Mean Diurnal Range (Mean of monthly (max temp - min temp))
bio_3	Isothermality (BIO2/BIO7) (* 100)
bio_4	Temperature Seasonality (standard deviation *100)
bio_5	Max Temperature of Warmest Month
bio_6	Min Temperature of Coldest Month
bio_7	Temperature Annual Range (BIO5-BIO6)
bio_8	Mean Temperature of Wettest Quarter
bio_9	Mean Temperature of Driest Quarter
bio_10	Mean Temperature of Warmest Quarter
bio_11	Mean Temperature of Coldest Quarter
bio_12	Annual Precipitation
bio_13	Precipitation of Wettest Month
bio_14	Precipitation of Driest Month
bio_15	Precipitation Seasonality (Coefficient of Variation)
bio_16	Precipitation of Wettest Quarter
bio_17	Precipitation of Driest Quarter
bio_18	Precipitation of Warmest Quarter
bio_19	Precipitation of Coldest Quarter

Annexe 6. Arbres de gènes

Les arbres de genes ont été réalisées par la méthode bayésienne en utilisant le plugin MrBayes 3.2.2 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001). Le taxon *Gesneria fruticosa* a été utilisé comme groupe-frère pour enraciner les arbres.

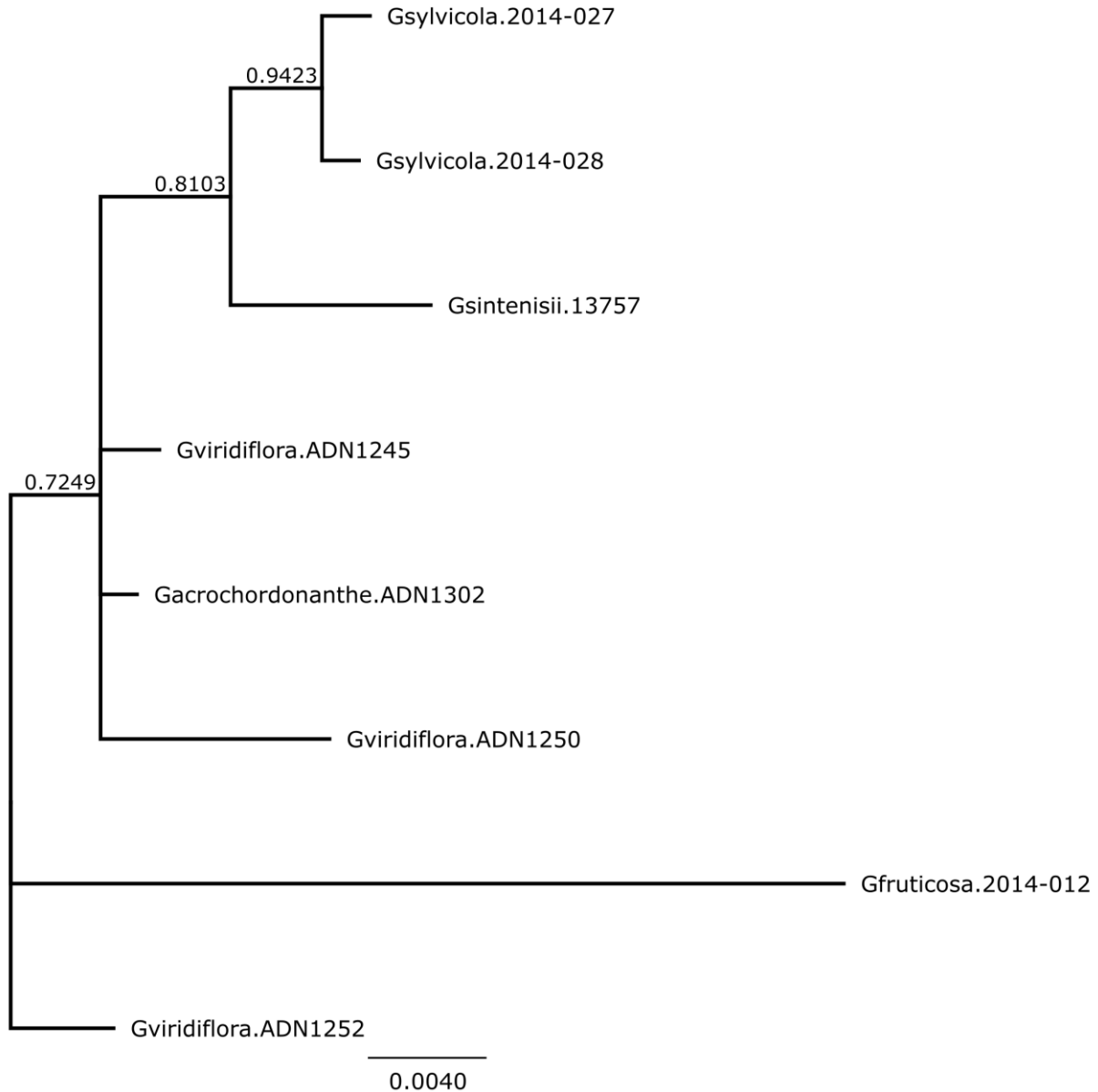


Figure 9. Arbre phylogénétique du gène CHI pour les individus du complexe de *Gesneria viridiflora*. Les nombres le long des branches correspondent à la probabilité postérieure pour le clade.

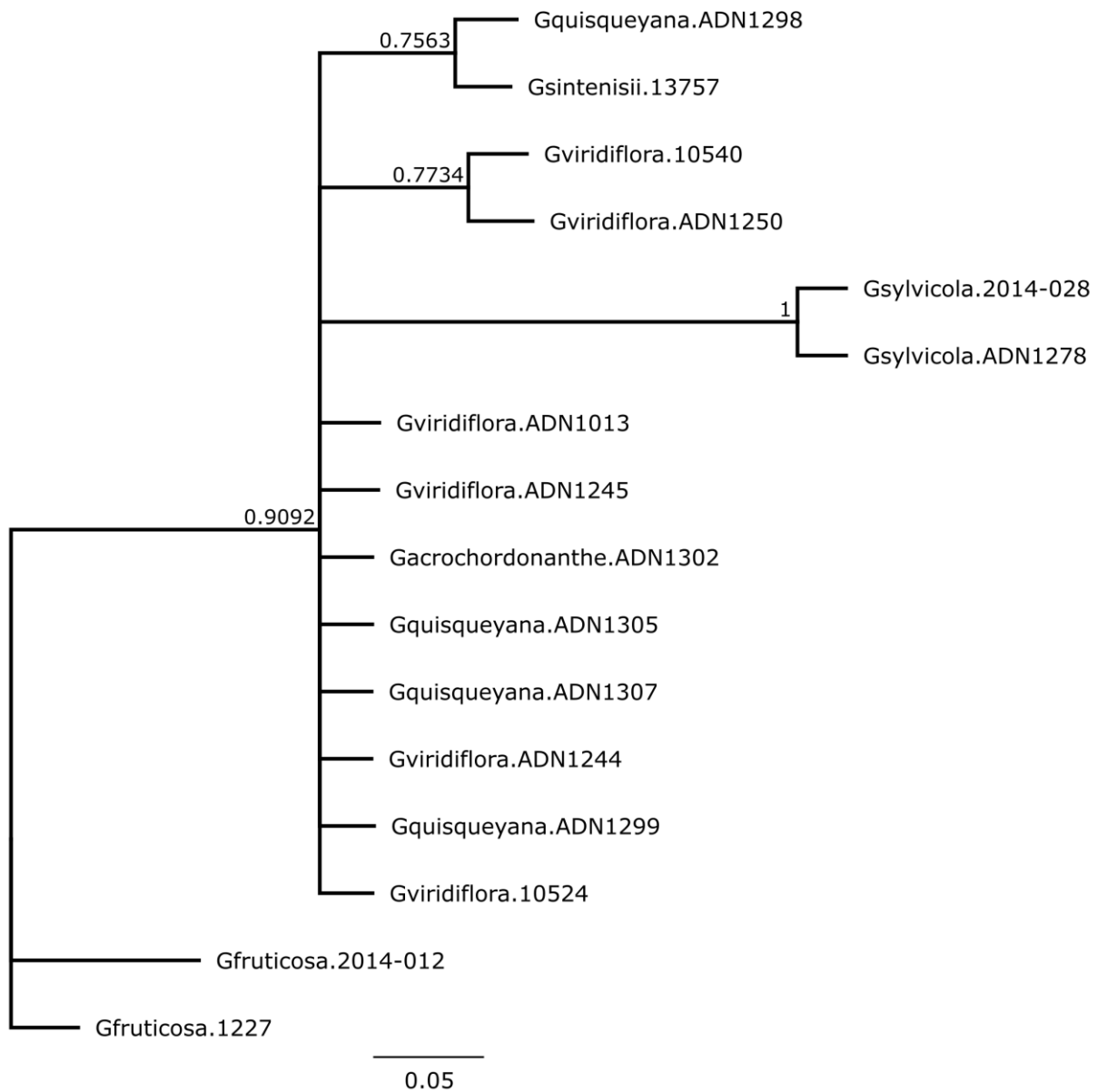


Figure 10. Arbre phylogénétique du gène F3H pour les individus du complexe de *Gesneria viridiflora*. Les nombres le long des branches correspondent à la probabilité postérieure pour le clade.

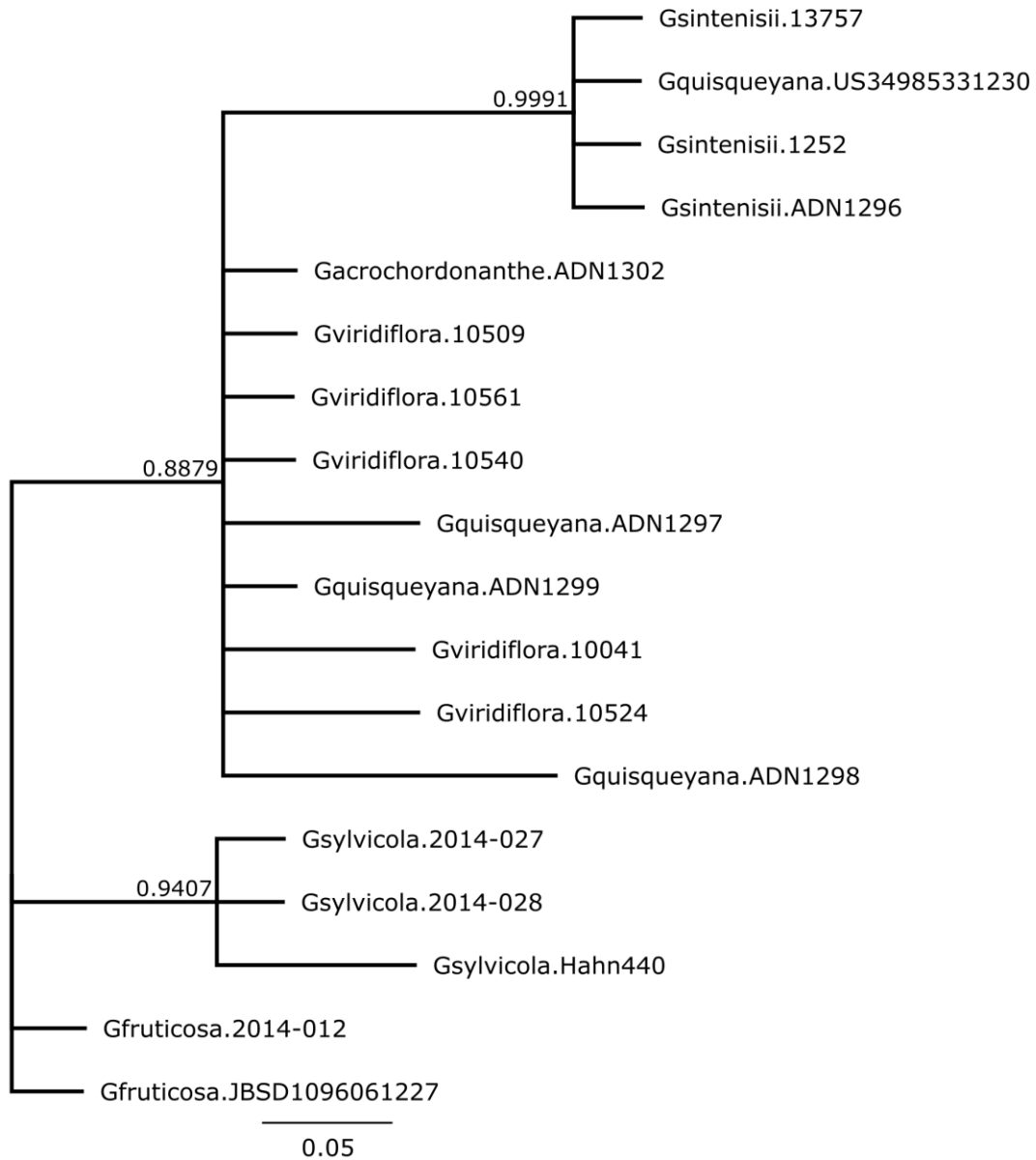


Figure 11. Arbre phylogénétique du gène GCYC pour les individus du complexe de *Gesneria viridiflora*. Les nombres le long des branches correspondent à la probabilité postérieure pour le clade.

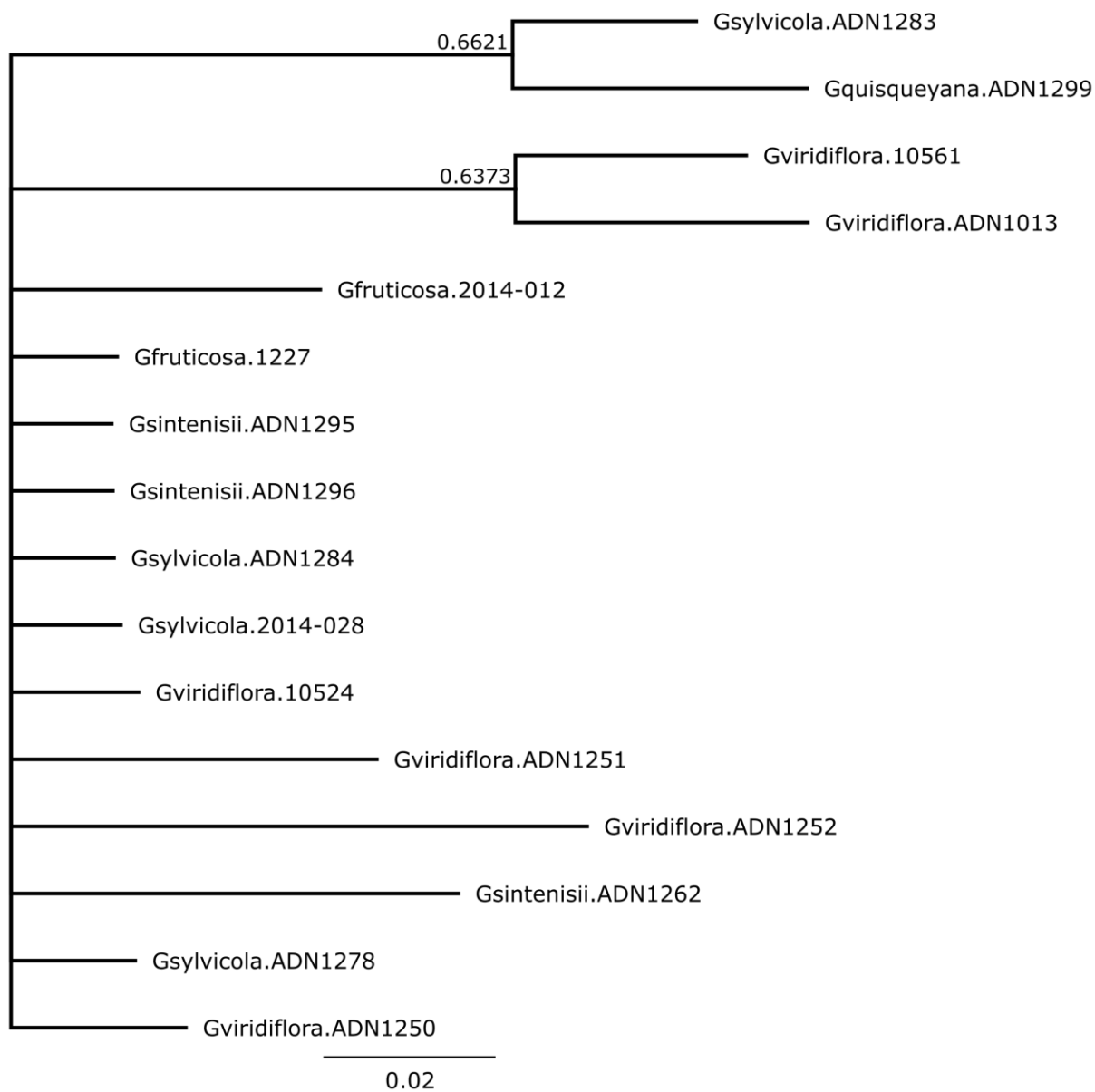


Figure 12. Arbre phylogénétique du gène UF3GT pour les individus du complexe de *Gesneria viridiflora*. Les nombres le long des branches correspondent à la probabilité postérieure pour le clade.