

TESIS DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Anatomía reproductiva en especies de *Cordia*,
Genipa, *Randia* y *Tocoyena* (Gardenieae - Rubiaceae)
en el Cono Sur de Sudamérica**

por

Lic. Marina Daniela Judkevich

Directora: Dra. Ana Maria Gonzalez

Director Asociado: Roberto Manuel Salas

Instituto de Botánica del Nordeste



**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA**

Córdoba, Argentina

2018

COMISIÓN ASESORA

Dra. Ana María González

Lugar de Trabajo: IBONE-CONICET, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes.

Dra. Beatriz Gloria Galati

Lugar de Trabajo: Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Buenos Aires.

Dra. María Teresa Cosa

Lugar de Trabajo: Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba.

DEFENSA ORAL Y PÚBLICA

Lugar y Fecha:

Calificación:

TRIBUNAL

Firma: Aclaración:

Firma:..... Aclaración:

Firma:..... Aclaración:

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis, Dra. Ana Maria Gonzalez y el Dr. Roberto Salas por haberme brindado el tema de trabajo y por haber depositado en mí la confianza para realizarlo. Sus aportes en mi formación académica y profesional fueron de mucho valor.

Al Instituto de Botánica del Nordeste por darme el espacio donde realizar mis actividades de investigación y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas por darme financiamiento a través de una Beca Doctoral.

A las integrantes del grupo de Rubiaceae: Laila Miguel, Sandra Sobrado, Andrea Cabaña, por ayudarme a despejar dudas y por la colección de material.

A mis compañeros de trabajo y amigos: Stella Maris Solís, Elsa Lattar, Florencia Romero, Valeria Gonzalez, Melisa Zini, Mariela Nuñez, Javier Florentín, Silvia Fernandez y Héctor Sato, por sus consejos y por estar siempre.

A mis seres queridos que me acompañan y brindan su apoyo continuamente: Mariana Judkevich, Nathia Judkevich, Regina Dziewa y Ricardo Toledo.

LISTADO DE PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

1. **Judkevich MD**, Salas RM & Keller H. 2016. *Randia brevituba* (Rubiaceae), a new species from the Southern Cone of America and comments on *Randia armata*. *Syst. Bot.* 41(1): 238–244.
2. **Judkevich MD**, Salas RM & Gonzalez AM. 2015. Revisión de *Randia* (Rubiaceae) en Argentina, taxonomía y morfoanatomía. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 50 (4): 607-625.

ÍNDICE

<u>RESUMEN</u>	1
<u>SUMMARY</u>	3
<u>INTRODUCCIÓN</u>	5
<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	
Materiales	11
Métodos	12
Microscopía óptica (MO)	12
Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	13
Polen.....	13
Pruebas histoquímicas	13
Estudios taxonómicos.....	13
BIBLIOGRAFÍA	14
<u>CAPÍTULO I: SEXUALIDAD, MORFOLOGÍA Y ANATOMÍA FLORAL</u>	
INTRODUCCIÓN	15
RESULTADOS.....	18
Morfología floral	18
Perianto	25
Verticilos fértiles	35
Estructuras secretoras	36
<i>Nectario floral</i>	36
<i>Coléteres</i>	40
DISCUSIÓN	44
BIBLIOGRAFÍA	53
<u>CAPÍTULO II: ANDROCEO. DIFERENCIACIÓN DE LA PARED DE LA ANTERA Y DEL GRANO DE POLEN</u>	
INTRODUCCIÓN.....	58
RESULTADOS	60
Diferenciación de la Antera y de los Granos de Polen	60
<i>Estado 1. Células madres de las microsporas</i>	62
<i>Estado 2. Tétrades</i>	64
<i>Estado 3. Microsporas</i>	65
<i>Estado 4. Granos de polen</i>	67

<i>Estado 5. Dehiscencia de la antera</i>	67
<i>Estado X. Detención de la diferenciación</i>	70
Morfología y unidades de dispersión del polen	72
Pollenkitt	75
Orbículas	75
DISCUSIÓN	76
BIBLIOGRAFÍA	85
<u>CAPÍTULO III: GINECEO. ANATOMÍA DE ESTILO, ESTIGMA Y OVARIO.</u>	
<i>TIPO DE PLACENTACIÓN. ÓVULOS. MEGASPOROGÉNESIS Y MEGAGAMETOGÉNESIS</i>	
INTRODUCCIÓN	91
RESULTADOS	93
Anatomía del estilo y del estigma	93
Anatomía del ovario	101
Placentación.....	103
¿Qué sucede en el ovario de las flores funcionalmente estaminadas?	103
Óvulos. Megasporogénesis y megagametogénesis	105
<i>Estadio 1. Primordio del óvulo</i>	105
<i>Estadio 2. Célula madre de las megásporas</i>	105
<i>Estadio 3. Meiosis</i>	105
<i>Estadio 4. Saco embrionario</i>	106
DISCUSIÓN	112
BIBLIOGRAFÍA	119
<u>CAPÍTULO IV: ESTRATEGIAS REPRODUCTIVAS</u>	
INTRODUCCIÓN	121
RESULTADOS.....	123
Unisexualidad de las flores.....	123
Presentación secundaria del polen	124
Protandria	126
Propagación vegetativa.....	128
DISCUSIÓN	129
BIBLIOGRAFÍA	133

CAPÍTULO V: MORFOLOGÍA DEL FRUTO EN LAS ESPECIES DE GARDENIEAE.
ANATOMÍA Y DIFERENCIACIÓN DEL FRUTO EN CORDIERA CONCOLOR

INTRODUCCIÓN	135
RESULTADOS.....	136
Morfología de los frutos en las especies analizadas de Gardenieae.....	136
Anatomía y diferenciación del fruto de <i>C. concolor</i>	137
Ovario.....	138
Fruto inmaduro.....	139
Fruto intermedio.....	139
Fruto maduro.....	141
Histoquímica del fruto en los tres estadios de diferenciación	141
DISCUSIÓN	144
BIBLIOGRAFÍA	148

CAPÍTULO VI: REVISIÓN DEL GÉNERO RANDIA PARA EL CONO SUR DE SUDAMÉRICA

INTRODUCCIÓN	149
RESULTADOS.....	151
<i>Randia</i>	152
1) <i>Randia brevituba</i>	154
2) <i>Randia calycina</i>	158
3) <i>Randia ferox</i>	162
4) <i>Randia micracantha</i>	166
5) <i>Randia sp. nov.</i>	170
Presencia de <i>Randia armata</i> en Argentina.....	176
Estudios polínicos en las especies de <i>Randia</i> del Cono Sur de Sudamérica.....	178
DISCUSIÓN	180
BIBLIOGRAFÍA	182

DISCUSIONES Y CONCLUSIONES GENERALES..... 185

Sexualidad y morfo-anatomía floral	186
Estudios anatómicos y Embriológicos en los verticilos sexuales	187
Estrategias reproductivas	190
Anatomía y Ontogenia en frutos de <i>C. concolor</i>	191
Estudios taxonómicos de <i>Randia</i> en el Cono Sur de Sudamérica.....	191
BIBLIOGRAFÍA	192

RESUMEN**Anatomía reproductiva en especies de *Cordia*, *Genipa*, *Randia* y *Tocoyena*
(*Gardenieae* - *Rubiaceae*) en el Cono Sur de Sudamérica**

La familia Rubiaceae cuenta con cerca de 650 géneros y 13.000 especies reunidas en tres subfamilias (Cinchonoideae, Ixoroideae y Rubioideae), cuatro supertribus y 42 tribus. La tribu Gardenieae (subfamilia Ixoroideae) es una de las más diversas, incluyendo ca. de 75 géneros. En América, esta tribu cuenta con 18 géneros, más de la mitad son pequeños árboles o arbustos, tiene tanto especies hermafroditas con flores perfectas, como taxones monoicos y dioicos, con flores unisexuales. La información en cuanto a la anatomía y sistema reproductivo de las especies de la tribu Gardenieae es muy escasa. En esta tesis se proponen como objetivos analizar aspectos del sistema reproductivo y de la organización floral de especies sudamericanas de la tribu Gardenieae, tales como sexualidad de las plantas, anatomía floral, esporogénesis y gametogénesis, a fin de contribuir con información para el conocimiento de las especies de la tribu. Además, se llevó a cabo la revisión del género *Randia*, con el fin de resolver problemáticas taxonómicas del género en el Cono Sur de Sudamérica.

Se realizaron estudios en cuatro géneros de la tribu Gardenieae (*Tocoyena*, *Cordia*, *Genipa* y *Randia*) que habitan en Argentina y en países limítrofes (Bolivia, Brasil y Paraguay). Para los estudios morfo-anatómicos y embriológicos se analizaron cinco especies teniendo en cuenta su sexualidad: una especie hermafrodita: *Tocoyena formosa*, y cuatro especies dioicas: *Cordia concolor*, *Genipa americana*, *Randia calycina* y *Randia sp. nov.* Se realizaron viajes de colección, el material fue colectado en fijadores histológicos y se lo procesó siguiendo las técnicas convencionales para su observación con microscopio óptico y electrónico de barrido. Para los estudios taxonómicos se analizaron ejemplares provenientes de diversos herbarios de Argentina y de Paraguay realizando un estudio de taxonomía clásica.

En *T. formosa*, *C. concolor*, *G. americana*, *R. calycina* y *R. sp. nov.* los estudios anatómicos realizados permitieron describir la relación estructura/función de las flores, confirmando el hermafroditismo en *T. formosa* y la dioecia críptica en las restantes especies. En las plantas dioicas, las flores morfológicamente perfectas son en realidad funcionalmente pistiladas o estaminadas. En las anteras de las flores funcionalmente pistiladas se produce la detención de la microesporogénesis y la diferenciación del polen, variando entre las distintas

especies el momento en que ocurre este proceso. Por otro lado, en el ovario de las flores funcionalmente estaminadas, hay escaso o nula diferenciación de los óvulos y están ausentes por completo los procesos de megasporogénesis y megagametogénesis. Se mencionan novedades como la presencia de orbículas en *C. concolor*, la existencia de placentoides en las anteras de *Randia spp.* y *T. formosa*, describiéndose un nuevo tipo de placentoides en esta última especie. En las Rubiaceae un carácter muy variable son los tipos de óvulos, contabilizándose 11 tipos diferentes a la fecha. El análisis comparativo permitió describir un nuevo tipo de óvulo, denominado “tipo *Gardenia*” y se propone una posible secuencia evolutiva.

En esta tribu una característica particular de los frutos maduros es que las semillas están sumergidas en una pulpa gelatinosa, de la cual no se conoce su origen. Se estudió la diferenciación del fruto en *C. concolor*, especie con los frutos de menor tamaño, lo que permitió dilucidar el origen predominantemente mesocárpico de dicha pulpa.

Finalmente, los estudios taxonómicos de *Randia* revelaron que en el Cono Sur de Sudamérica, el género cuenta con cinco especies delimitadas morfológica y geográficamente. Se aporta una clave dicotómica para diferenciar a las especies de *Randia* que habitan en el área de estudio, se incluyen además ilustraciones de cada especie.

Con esta tesis doctoral se realizaron aportes originales en especies sudamericanas de la tribu *Gardenieae*, abarcando tanto estudios anatómicos como taxonómicos, los cuales serán útiles para realizar futuros estudios comparativos con otras especies de la tribu y de la familia.

SUMMARY

Reproductive anatomy of *Cordia*, *Genipa*, *Randia*, and *Tocoyena* (Gardenieae - Rubiaceae) species in the Southern Cone of South America

The family Rubiaceae has about 650 genera and 13,000 species assembled in three subfamilies (Cinchonoideae, Ixoroideae and Rubioideae), four supertribes and 42 tribes.

The Gardenieae tribe (subfamily Ixoroideae) is one of the most diverse, including ca. of 75 genera. In America, this tribe has 18 genera, of which more than half are small trees or shrubs, has both hermaphrodite species with perfect flowers, and monoecious and dioecious taxa, with unisexual flowers. The information regarding the anatomy and reproductive system of the species of the Gardenieae tribe is very scarce. The objectives of this thesis were to analyze aspects of the reproductive system and floral organization of South American species of the Gardenieae tribe, such as plant sexuality, floral anatomy, male and female sporogenesis and gametogenesis, in order to contribute with information for the knowledge of the species of the tribe. In addition, a review of the genus *Randia* was carried out in order to improve the taxonomic problems of the genus in the Southern Cone of South America.

Four genera of the tribe Gardenieae (*Tocoyena*, *Cordia*, *Genipa*, and *Randia*) from Argentina and neighboring countries (Bolivia, Brazil, and Paraguay) were studied. For the selection of species destined to the morpho-anatomical and embryological studies, their sexuality was taken into account: one hermaphrodite species: *Tocoyena formosa*, and four dioecious species: *Cordia concolor*, *Genipa americana*, *Randia calycina* and *Randia sp. nov.* Collection trips were made; the material was collected in histological fixators and processed following conventional techniques for observation with light microscopy and scanning electron microscopy. For the taxonomic studies, specimens from different herbaria in Argentina and Paraguay were analyzed, and a classical taxonomy study was performed.

In *T. formosa*, *C. concolor*, *G. americana*, *R. calycina* and *R. sp. nov.* with the anatomical studies were carried out; the structure/function relationship of the flowers was described, confirming the hermaphroditism in *T. formosa* and the cryptic dioecia in the remaining species. In the dioecious plants, the morphologically perfect flowers are actually functionally pistillate or staminate. In the anthers of the functionally pistillate flowers, the microsporogenesis and the development of pollen are arrested; the moment of interruption of this process varies among the different species. On the other hand, in the ovary of the functionally staminate flowers, there is little or no development of the ovules and the

processes of megasporogenesis and megagametogenesis are completely absent. Novelty is mentioned such as the presence of orbicles in *C. concolor*, the occurrence of placentoid in the anthers of *Randia spp.* and *T. formosa* and a new type of placentoid in the latter.

In the Rubiaceae a very variable character are the ovules types, 11 types were described to date. Comparative analysis makes it possible to describe a new type of ovule, named "*Gardenia*" and a possible evolutionary sequence is proposed.

In this tribe, a particular characteristic of ripe fruits is that the seeds are embedded in a gelatinous pulp, whose origin is unknown. The development of the fruit was studied in *C. concolor*, a species with the smallest fruits, which allowed elucidating the predominantly mesocarpic origin of this pulp.

Finally, the taxonomic studies of *Randia* revealed that in the Southern Cone of South America, the genus has five morphologically and geographically delimited species. It provides a dichotomous key to differentiate the species of *Randia* that live in the study area, including illustrations of each species.

With this doctoral thesis original contributions were made in South American species of the tribe Gardenieae, covering both anatomical and taxonomic studies, which will be useful for future comparative studies with other species of the tribe and the family.

INTRODUCCIÓN

Rubiaceae es una de las cinco familias de Angiospermas más rica en especies (ca. 13000). Se encuentra dividida en tres subfamilias (Cinchonoideae, Ixoroideae y Rubioideae), 40 tribus y ca. 620 géneros (Goevarts *et al.*, 2011). En un concepto amplio, la tribu Gardenieae *s.l.* (subfamilia Ixoroideae) incluye alrededor de 100 géneros (Mouly *et al.*, 2014; Persson & Delprete, 2017) de árboles, arbustos y lianas (Robbrecht, 1988). En una circunscripción estricta, Gardenieae *s.s.* contiene solo 46 géneros, excluyendo los géneros pertenecientes al grupo *Alibertia* (Mouly *et al.*, 2014).

En el Neotrópico, Gardenieae *s.l.* comprende 18 géneros, más de la mitad son pequeños árboles o arbustos dioicos. La tribu Gardenieae cuenta con representantes hermafroditas, monoicos y dioicos (Mouly *et al.*, 2014), encontrándose especies con flores perfectas y especies con flores unisexuales. Entre los géneros hermafroditas se encuentran *Rosenbergiodendron* Fagerl., *Tocoyena* Aubl. y *Sphinctanthus* Benth. Entre los géneros monoicos se encuentran *Atractogyne* L., *Mitriostigma* Hochst, *Oxyanthus* DC. y *Sherbournia* G. Don (Mouly *et al.*, 2014). Entre los géneros dioicos se encuentran *Alibertia* A. Rich. ex DC., *Cordia* A. Rich. ex DC., *Genipa* L. (Zappi *et al.*, 1995) y *Randia* L. (Hallé, 1967).

En Gardenieae *s.l.* se describió la dioecia críptica porque dicha tribu presenta flores funcionalmente pistiladas con estaminodios (estambres con anteras vacías) y flores funcionalmente estaminadas con ovario rudimentario y estigma no funcional (Robbrecht & Puff, 1986). Este tipo de dioecia difiere de la típica por presentar flores funcionalmente unisexuales pero morfológicamente hermafroditas (Mayer & Charlesworth, 1991; Li *et al.*, 2010).

Todos los géneros de Gardenieae *s. l.* estudiados aquí son exclusivamente de la región Neotropical, considerando su actual clasificación taxonómica, *Genipa*, *Randia* y *Tocoyena* pertenecen a Gardenieae *s.s.* mientras que *Cordia* es parte de la tribu recientemente reconocida Cordiereae (Mouly *et al.*, 2014). En ambos grupos Gardenieae *s.s.* y Cordiereae, se desconocen estudios anatómicos de piezas florales.

Por otro lado, el tipo de óvulo es un carácter que presenta gran variabilidad en la familia. Schleiden (1837) analizó la disposición anátropa y ausencia de tegumentos en *Houstonia* L. Lloyd (1902) describe óvulos unitégmicos en *Vaillantia* Hoffm. Fagerlind (1937) realizó el trabajo más amplio para la familia, basado en las características del óvulo propone varios tipos

y presenta una tendencia evolutiva de los mismos. Hallé (1967) describió a los óvulos de *Gardenieae* como anátropos con un único tegumento.

Trabajos posteriores ampliaron el número de tipos de óvulos y la afinidad evolutiva entre éstos (Andronova, 1977; Galati, 1991; Mariath & Cocucci, 1997; De Toni & Mariath, 2004, 2008). De Toni & Mariath (2008) resaltan que los conocimientos de la diferenciación del óvulo en Rubiaceae son fragmentarios y solo hay datos en algunos géneros aislados. Adicionalmente, ocho de los tipos de óvulos conocidos pertenecen a plantas de los dos únicos clados herbáceos: Rubieae y Spermaceae (subfamilia Rubioideae). En Rubieae, se describieron los tipos: *Galium*, *Rubia*, *Phyllis* y *Valantia* y en Spermaceae los tipos *Bouvardia*, *Houstonia*, *Mitracarpus* y *Oldenlandia*. Recientemente, fueron analizadas dos especies leñosas de la subfamilia Cinchonoideae: *Ixora coccinea* L. y *Chomelia obtusa* Cham. & Schltldl. resultando en un nuevo tipo de óvulo para la familia: tipo *Ixora*, el cual incluye a *Chomelia* (De Toni & Mariath, 2008). Los estudios recientes en tribus cercanas se enfocaron en la diferenciación de la placentación y de las semillas, sin ahondar en el estudio del rudimento seminal (Periasamy & Parameswaran, 1965; De Block, 1995).

En todos los géneros de *Gardenieae s.l.*, los óvulos se encuentran embebidos en una estructura de naturaleza y origen muy discutidos, mencionada como obturador, estrofiolo o arilo dependiendo del grupo y del estudio realizado (De Toni & Mariath, 2008). Dicha estructura permanece en las semillas como una pulpa jugosa, de origen placentario y se desarrolla después de la fecundación. La única información conocida proviene de *Benkara malabárica* (Lam.) Tirveng., originaria de la India (Periasamy, 1964).

En la tribu, el tipo de placentación varía entre los géneros, entre los que se conocen la placentación parietal, axilar típica y axilar difusa. La parietal se menciona en los géneros *Gardenia* y *Duroia* L.f., mientras que la axilar típica aparece en los géneros *Genipa* y *Bertiera*. Por último, la placentación axilar difusa se conoce en *Benkara malabarica* (Lam.) Tirveng. (India), *Rosenbergiodendron longiflorum* (Ruiz & Pav.) Fagerl. (Brasil), *Rothmannia hispida* (K. Schum.) (África), *Rothmannia longiflora* Salisb. (África) y *Tocoyena guianensis* K. Schum. (Brasil) (Hallé, 1967).

Los frutos y semillas de *Gardenieae s.l.* son los de mayor tamaño conocidos (hasta 18 cm y 2 cm respectivamente, Robbrecht, 1988), en algunas especies de *Rothmannia* el diámetro de los frutos puede alcanzar los 20 cm (Hallé, 1967). Robbrecht & Puff (1986) utilizaron caracteres del fruto y exotesta de semilla, sumado a algunos caracteres florales y polínicos para separar tres grupos informales: *Alibertia*, *Aida* y *Tetrad* (incluye a *Randia*).

En cuanto a la morfología polínica, Persson (1993) realizó el estudio más amplio conocido para la tribu, demostró que la misma es euripolínica con granos en mónades, tétrades e incluso en másulas, siendo el grano 3-colporado el más común. Los resultados afirmaron la monofilia de algunos géneros (*Massularia* Schljakov), mientras que otros aparecen morfológicamente similares (*Gardenia* y *Randia*, entre otros). En *Randia*, el análisis de las especies del Cono Sur de Sudamérica demostró dos tipos polínicos bien marcados, uno con la exina completamente psilada y sin columelas, y otro con exina semitectada y columelas (Judkevich *et al.*, 2015). En *Tocoyena formosa* (Cham. & Schltld.) K. Schum., los granos de polen fueron descritos sobre la base de microscopio óptico como 3 (4)-porados y de exina reticulada (Miranda *et al.*, 1993). Los trabajos más importantes sobre la diferenciación del polen en Rubiaceae fueron llevados a cabo por embriólogos hindúes (Andronova, 1984 y citados por él). Hansson & El-Ghazaly (2000), estudiaron la diferenciación de la tétrade de *Mitriostigma axillare* Hochst., especie africana de Gardenieae, resultando el estudio más completo de la diferenciación de tétrades en la familia. Estudios similares se desconocen para taxones americanos.

Finalmente, en la familia Rubiaceae se han descrito estructuras secretoras denominadas coléteres, cuya morfología y organización anatómica es de relevancia para la taxonomía infra y supragenérica en la familia, siendo en algunos casos importantes para establecer relaciones filogenéticas (Lersten, 1975; Robbrecht, 1988). En la tribu Gardenieae *s.l.*, los lóbulos del cáliz en general están provistos internamente de coléteres idénticos a los que se encuentran en la cara interna de las estípulas (Hallé, 1967). Lerstern (1975) estudió los coléteres de las estípulas en un gran número de Rubiáceas, como es el caso de *Cordia concolor* en la que observó coléteres de tipo dendroide. En *Tocoyena formosa*, Machado *et al.* (2008) mencionaron coléteres en la base de la superficie adaxial de los sépalos sin dar detalles de su estructura anatómica. En *Randia ferox* y *R. micracantha*, se encontraron coléteres del tipo estándar en la cara interna de las estípulas interpeciolares, mientras que resultaron ausentes en la flor (Judkevich *et al.*, 2015). En los demás géneros americanos de la tribu, los estudios se limitan a lo mencionado en las descripciones taxonómicas.

OBJETIVOS DE LA TESIS

OBJETIVO GENERAL

- Analizar diversos aspectos del sistema reproductivo y de la organización floral de especies sudamericanas de la tribu Gardenieae (Rubiaceae), tales como sexualidad de las plantas, anatomía floral, esporogénesis y gametogénesis a fin de contribuir con información para la taxonomía de la tribu.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Estudiar la organización estructural de las flores a fin de determinar si son perfectas, imperfectas o morfológicamente perfectas con función pistilada o estaminada, y explorar la relación estructura/función de las mismas.

- Analizar el proceso de esporogénesis y gametogénesis mediante microscopía óptica y electrónica de barrido, para aportar datos acerca de la diversidad de expresiones en la sexualidad de las flores.

- Analizar comparativamente los diferentes tipos de placentación y otros caracteres florales que contribuyan a la delimitación de los géneros/especies, por ejemplo indumento, coléteres, nectarios, etc.

- Estudiar el tipo de óvulo en las especies seleccionadas y compararlo con los ya conocidos para la familia.

- Analizar la morfología de polen y unidades polínicas en los diversos géneros, a fin de evaluar comparativamente este carácter en la familia.

- Analizar y describir la diferenciación del fruto de *Cordia concolor* con el fin de establecer el origen, la naturaleza anatómica e histoquímica de la estructura en la que se encuentran embebidas las semillas.

- Delimitar morfológicamente los taxones propuestos de esta tribu en base a todos los caracteres recabados en este estudio.

- Describir las estrategias reproductivas que presentan las especies propuestas.

- Realizar la revisión del género *Randia* L. en Argentina.

BIBLIOGRAFÍA

- Andronova NN. 1977.** Structure of the ovule in Rubiaceae *Juss. Jull. Bot. Žurn.* 62: 1461-1469.
- Andronova NN. 1984.** The structure of the anther and pollen development in the Rubiaceae. *Bot. Zh.* 69: 43-54.
- De Block P. 1995.** Ovary, seed and fruit of *Rutidea* (Rubiaceae, Pavetteae). *Pl. Syst. Evol.* 196(1-2): 1-17.
- De Toni KLG & JEA. Mariath. 2004.** Desenvolvimento do rudimento seminal em *Borreria verticillata* (L.) G. Mey. (Rubiaceae-Rubioideae-Spermacoceae). *Rev. bras. Bot.* 27(1): 185-192.
- De Toni KLG & JEA Mariath. 2008.** Ovule ontogeny in Rubiaceae (Juss.): *Chomelia obtusa* (Cinchonoideae-Guettardeae) and *Ixora coccinea* (Ixoroideae-Ixoreae). *Plant Syst. Evol.* 272: 39-48.
- Fagerlind F. 1937.** Embryologische, zytologische und bestaè ubungsexperimentelle studien in der familie Rubiaceae nebst bemerkungen uè ber einige polyploiditaé tsprobleme. *Acta Horti Berg.* 11: 195-470.
- Galati BG. 1991.** Estudios embriológicos en la tribu Spermacoceae (Rubiaceae). Parte I: Anatomía floral. Megasporogénesis. Megagametogénesis. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 27(1-2): 7-20.
- Govaerts, R.; Ruhsam, M.; Andersson, L.; Robbrecht, E.; Bridson, D.M.; Davis, A.P.; Schanzer, I. & Sonké, B. 2011.** World checklist of Rubiaceae. Royal Botanic Gardens, Kew. Disponible en: <<http://www.kew.org/wcsp/rubiaceae>>.
- Hansson T & G El-Ghazaly 2000.** Development and cytochemistry of pollen and tapetum in *Mitriostigma axillare* (Rubiaceae). *Grana* 39: 65-89.
- Hallé F. 1967.** *Étude biologique et morphologique de la Tribu des Gardéniées (Rubiacées)*. Paris: émoire ORSTOM n° 22. 146 p.
- Judkevich MD, RM Salas, AM Gonzalez. 2015.** Revisión de *Randia* (Rubiaceae) en Argentina, taxonomía y morfoanatomía. *Bol. Soc. Arg. Bot.* 50 (4): 607–625.
- Lersten NR. 1975.** Colleter types in Rubiaceae, especially in relation to the bacterial leaf nodule symbiosis. *Bot. J. Linnean Soc.* 71(4): 311-319.
- Li AM, XQ Wu, DX Zhang, SCH Barrett. 2010.** Cryptic dioecy in *Mussaenda pubescens* (Rubiaceae): a species with stigma-height dimorphism. *Ann. Bot.* 106: 521–531.

- Lloyd FE. 1902.** The comparative embryology of the Rubiaceae. *Mem. Torrey Bot. Club* 8: 27–112.
- Machado SR, LPC Morellato, MG Sajo & OS Oliveira. 2008.** Morphological patterns of extrafloral nectaries in woody plant species of the Brazilian cerrado. *Plant Biol.* 10: 660–673.
- Mariath JEA & Cocucci AE. 1997.** The ovules of *Relbunium hypocarpium* in the context of the Rubiaceae. *Kurtziana* 25:141–150.
- Mayer SS, D Charlesworth. 1991.** Cryptic dioecy in flowering plants. *Trends Ecol Evol* 6: 320–325.
- Miranda MMB, Andrade TAP & MH Alves. 1993.** Contribuição ao estudo do pólen das Rubiaceae – *Tocoyena*. *Ciên. Agron.* 24(1/2): 35–38.
- Mouly A, K Kainulainen, C Persson, AP Davis, KM Wong, SG Razafimandimbison, B Bremer. 2014.** Phylogenetic structure and clade circumscriptions in the Gardenieae complex (Rubiaceae). *Taxon* 63 (4): 801–818.
- Periasamy K. 1964.** Studies on seed with ruminant endosperm. V. Seed development and rumination in two genera of the Rubiaceae. *Proc. Indian Acad. Sci. Pl. Sci.* 60: 351–360.
- Periasamy K & N Parameswaran. 1965.** A contribution to the oral morphology and embryology of *Tarenna asiatica*. *Beitr. Biol. Pflanze* 41: 123–138.
- Persson C. 1993.** Pollen morphology of the Gardenieae-Gardeniinae (Rubiaceae). *Nord. J. Bot.* 13: 561–582.
- Persson C & PG Delprete. 2017.** The *Alibertia* Group (Gardenieae-Rubiaceae) – Part 1. Flora Neotropica monograph, 119: 1–241.
- Robbrecht E. 1988.** Tropical woody Rubiaceae. *Opera Bot. Belg.* 1: 1–271.
- Robbrecht E & C Puff. 1986.** A survey of the Gardenieae and related tribes (Rubiaceae). *Bot. Jahrb. Syst.* 108: 63–138.
- Schleiden MJ. 1837.** Einige Blicke auf die Entwicklungsgeschichte des vegetabilischen Organismus bei den Phanerogamen. *Archiv für Natur Geschichte* 1(3): 289–414.
- Zappi DC, J Semir & N Pierozzi. 1995.** *Genipa infundibuliformis* sp. nov. and notes on *Genipa americana* (Neotropical Rubiaceae). *Kew Bull.* 50(4): 761–771.

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES

Los estudios realizados en esta tesis se llevaron a cabo en diferentes especies de la tribu *Gardenieae*. Los estudios anatómicos desarrollados se basaron en material coleccionado personalmente. Los ejemplares testigos están depositados en el herbario “Carmen L. Cristóbal” CTES, Corrientes, Argentina. Se utilizaron las abreviaciones FFE y FFP para distinguir a los ejemplares colectados con flores funcionalmente estaminadas de los ejemplares con flores funcionalmente pistiladas respectivamente.

MATERIAL UTILIZADO PARA REALIZAR LOS ESTUDIOS ANATÓMICOS

Cordia concolor (Cham.) Kuntze. Argentina. Misiones, San Ignacio, Teyú Cuaré, 01 Mar 2013, Judkevich MD & Salas RM 11 (FFP). *Ídem*, 23 Abr 2016, Judkevich MD & Salas 73 (FFE). *Ídem*, 23 Abr 2016, Judkevich MD & Salas 74 (FFP).

Genipa americana L. Argentina. Formosa, Guaycolec, Estancia “Bella Mar”, 11 Sep 2014, Judkevich MD & Salas RM 53 (FFP). *Ídem*, Estancia Miriquiná, 28 Ene 2015, Judkevich MD & Salas RM 58 (FFP). *Ídem*, Judkevich MD & Salas RM 59 (FFP). *Ídem*, 22 Dic 2015, Judkevich MD *et al.*, 73 (FFP). *Ídem*, Estancia Biológica Guaycolec, 16 Nov 2016, Judkevich MD *et al.*, 84 (FFP). Paraguay. Asunción, Campus UMA, 24 Nov 2016, Judkevich MD *et al.*, 85 (FFE).

Randia calycina Cham. Argentina. Formosa, Guaycolec, Estancia “Bella Mar”, 10 Sep 2014, Judkevich MD & Salas RM 49 (FFP). *Ídem*, Judkevich MD & Salas RM 52 (FFE). *Ídem*, “Monte Lindo Chico”, 11 Sep 2014, Judkevich MD & Salas RM 54 (FFE). Chaco, Primero de Mayo, Colonia Benítez, 28 Nov 2014, Judkevich MD & Salas RM 57 (FFP). *Ídem*, 01 Oct 2015, Judkevich MD & Salas RM 70 (FFE). *Ídem*, 01 Oct 2015, Judkevich MD & Salas RM 71 (FFP). *Ídem*, 01 Oct 2015, Judkevich MD & Salas RM 72 (FFP).

Randia sp. nov. Argentina. Corrientes, Riachuelo, 17 Sep 2014, Judkevich MD & Salas RM 55 (FFE). *Ídem*, Judkevich MD & Salas RM 56 (FFP). *Ídem*, Puente Pexoa, 14 Sep 2016, Judkevich MD *et al.*, 75 (FFE). *Ídem*, 14 Sep 2016, Judkevich MD *et al.*, 77 (FFE). San Cosme, Las Lomas, Ensenada Grande, 29 Ago 2015, Judkevich MD *et al.*, 61 (FFE). *Ídem*, Judkevich MD *et al.*, 62 (FFP). Dpto: Dan Miguel, Estancia “Tranquila”, 11 Sep 2015, Judkevich MD *et al.*, 63 (FFP). *Ídem*, 11 Sep 2015,

Judkevich MD *et al.*, 64 (FFE). *Ídem*, 11 Sep 2015, Judkevich MD *et al.*, 65 (FFP). *Ídem*, Estancia “Santa Julia”, 11 Sep 2015, Judkevich MD *et al.*, 66 (FFE). *Ídem*, 11 Sep 2015, Judkevich MD *et al.*, 67 (FFP). *Ídem*, 11 Sep 2015, Judkevich MD *et al.*, 68 (FFE).

Tocoyena formosa (Cham. & Schltld.) K. Schum. Paraguay. Asunción, Cerro Tobatí, 25 Nov 2016, MM *et al.*, 187. *Ídem*, 25 Nov 2016, MM *et al.*, 188.

MATERIAL EXAMINADO PARA ESTUDIOS TAXONÓMICOS DE *RANDIA*

Para estudios taxonómicos se analizaron cinco especies pertenecientes al género *Randia*: *R. brevituba*, *R. calycina*, *R. ferox*, *R. micracantha* y *R. sp. nov.* Las observaciones se basaron en material coleccionado personalmente, material herborizado proveniente de diferentes instituciones y numerosas observaciones de campo. Todo el material analizado en el trabajo taxonómico se detalla en el Capítulo VI.

MÉTODOS

MATERIAL PARA ESTUDIOS ANATÓMICOS

Se colectaron botones y flores de *T. formosa*, *C. concolor*, *G. americana*, *R. calycina* y *R. sp. nov.* y frutos de diferentes estados de diferenciación de *C. concolor*. El material fue preservado en FAA (5 mL formol, 5 mL ácido acético, 90 mL 70% etanol).

MICROSCOPIA ÓPTICA (MO)

Para observaciones generales, los botones, flores y frutos fijados en FAA fueron deshidratados en serie de deshidratantes histológicos e incluidos en parafina (Johansen 1940; modificado por Gonzalez & Cristóbal 1997), luego se realizaron cortes a 12 µm de espesor utilizando micrótopo rotativo Microm HM350 (Microm International, Walldorf, Alemania). Los cortes fueron coloreados con Safranina y Astra Blue (Luque *et al.*, 1996) y montados con bálsamo de Canadá sintético. La presencia de cristales fue confirmada con observaciones en MO con filtro de luz polarizada.

Las observaciones y las imágenes digitales fueron obtenidas utilizando un microscopio óptico Leica DM LB2 (Leica Microsystems) equipado con una cámara digital Leica ICC50 HD.

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)

Para observaciones de superficie de anteras, estigma, nectarios, coléteres y unidades polínicas, el material fijado en FAA fue deshidratado en una serie creciente de acetona, luego secadas a punto crítico usando CO₂ líquido (Denton Vacuum, DCP-1, Pleasanton, NJ) y cubiertas con Oro-Paladio (Denton Vacuum, Desk II, Pleasanton, NJ). Las muestras fueron analizadas con microscopio electrónico a Jeol LV 5800 (JEOL, Tokyo, Japan) a 10 kV en el Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes.

POLEN

Muestras de polen fueron tomadas de anteras maduras de material fijado (FAA) y de material de herbario (CTES), las cuales fueron acetolizadas siguiendo a Erdtman (1966) y analizadas con MO y MEB. En cada especie se midió un promedio de 25 granos de polen. La terminología utilizada sigue a Punt *et al.* (2007).

PRUEBAS HISTOQUÍMICAS

Para identificar pollenkitt en la superficie del polen, anteras frescas fueron vaciadas en un portaobjeto con una gota de Sudan III (Johansen, 1940).

Para determinar presencia de almidón y de lípidos en el fruto de *C. concolor* se empleó Lugol y Sudán III respectivamente (Ruzin, 1999).

Se utilizó una solución de peróxido de hidrógeno 3-6% para determinar receptividad estigmática siguiendo a Dafni & Maués (1988).

ESTUDIOS TAXONÓMICOS

Se analizó material en estado vegetativo y reproductivo proveniente de diferentes provincias de Argentina, Brasil y Paraguay depositados en el herbario CTES. La identificación de las especies se realizó mediante imágenes de alta resolución disponibles en JSTOR (de herbarios europeos y americanos) y de materiales determinados por los especialistas depositados en los herbarios CTES y SI. Los análisis de las especies se hicieron a través de observaciones con lupa estereoscópica Leica MZ6 y se registraron mediante dibujos con cámara clara de material seco rehidratado o de material fijado. Se elaboró una clave para diferenciar las especies argentinas de *Randia* considerando los caracteres de mayor relevancia taxonómica y de más fácil observación. Las medidas fueron tomadas mediante calibre digital Schwyz. Teniendo en cuenta las observaciones con lupa de los ejemplares depositados en el herbario, en el material examinado mencionado en las

descripciones de las especies de *Randia*, se agregaron después de las fechas de colección las siguientes abreviaciones: P (pie pistilado), E (pie estaminado), fl (flor) y fr (fruto).

BIBLIOGRAFÍA

- Dafni A & MM Maués. 1998.** A rapid and simple procedure to determine stigma receptivity. *Sex. Plant. Reprod.* 11: 177–180.
- Erdtman G. 1960.** The acetolysis method. A revised description. *Sven. Bot. Tidskr.* 54: 561–564.
- Gonzalez AM & CL Cristóbal. 1997.** Anatomía y ontogenia de semillas de *Helicteres lhotzkyana* (Sterculiaceae). *Bonplandia* 9: 287–294.
- Johansen DA. 1940.** Plant microtechnique. McGraw-Hill., New York, USA.
- Luque R, HC Sousa & JE Kraus. 1996.** Métodos de coloração de Roeser (1972) - modificado - de Kropp (1972) visando a substituição do azul de astra por azul de alciano 8 GS ou 8 GX. *Acta Bot. Bras.* 10: 199–212.
- Punt W, PP Hoen, S Blackmore, S Nilsson, A Le Thomas. 2007.** Glossary of pollen and spore terminology. *Rev Palaeobot. Palynol.* 143: 1–81.
- Ruzin, SE. 1999.** Plant microtechnique and Microscopy. Oxford University Press. NY.

Capítulo I: Sexualidad, morfología y anatomía floral

INTRODUCCIÓN

En el Neotrópico, *Gardenieae s.l.* comprende 18 géneros; más de la mitad son árboles o arbustos dioicos. La tribu tiene miembros hermafroditas como el género *Tocoyena*, con 20 spp. y dioicos como *Cordia*, con 25 spp. La mayoría de las especies de *Randia* (90 spp.) son dioicas (Hallé, 1967), sin embargo hay algunas especies hermafroditas como *R. pterocarpa* y *R. oaxacana* (Lorence & Dwyer, 1987).

En estudios taxonómicos, *Genipa* se describió con diferentes distribuciones de género en flores o individuos, algunos autores la consideraron como hermafrodita (Steyermark, 1974; Dwyer, 1980; Burger & Taylor, 1993; Andersson *et al.*, 1993); para otros es unisexual (Robbrecht & Puff, 1986; Zappi *et al.*, 1995; Taylor, 2001; Ruzza, 2017), o ginodioica o ginomonoica (Steyermark & Persson, 2004), e incluso fue descrita como polígama (Persson & Delprete, 2017). Estos últimos autores sugirieron la necesidad de estudiar la sexualidad en el género, esto es importante especialmente en *G. americana* porque en varios países de Sudamérica (Argentina, Brasil, Colombia, México, Paraguay) sus frutos tienen importancia alimenticia y cultural (elaboración de tintes por tribus indígenas), sus hojas tienen propiedades medicinales y su madera se emplea en construcciones y carpintería (Mendoza *et al.*, 2004)

En *Gardenieae s.l.* la dioecia típica fue descrita como aquella que presenta un pie con flores funcionalmente pistiladas con estaminodios (estambres con anteras vacías) y otro pie cuyas flores son funcionalmente estaminadas con ovarios rudimentarios y estigmas no funcionales (Robbrecht & Puff, 1986). Sin embargo, como se explicó anteriormente, es evidente que numerosas especies presentarían una dioecia críptica, que difiere de la típica en tener flores funcionalmente unisexuales pero morfológicamente hermafroditas (Mayer & Charlesworth, 1991; Li *et al.*, 2010).

En cuanto a la morfología de las flores, la familia Rubiaceae se caracteriza por presentar flores generalmente pentámeras, simetría actinomorfa, la corola y el cáliz formados por tubo y lóbulos, estambres epipétalos en igual número que los lóbulos de la corola, con filamentos fusionados al tubo de la corola y ovario ínfero (Robbrecht, 1988). El

tamaño de las flores es variable, encontrándose las más grandes en la tribu Gardenieae e.g. en *T. guianensis* y *Posoqueria longiflora* las corolas alcanzan los 30 cm de longitud (Hallé, 1967). No se encontraron estudios que describan la anatomía de las piezas florales en especies de Gardenieae y hay pocos registros de este tipo de estudio en Rubiaceae en general (Puff & Igersheim, 1996; Piesschaert *et al.*, 2001; De Toni & Mariath, 2011; Martínez-Cabrera *et al.*, 2014; Florentín *et al.*, 2016).

Las flores de Rubiaceae presentan dos estructuras glandulares notables: nectarios y coléteres.

Los nectarios florales son estructuras involucradas en el proceso de polinización que pueden encontrarse en todas las partes de la flor y producir una gran variedad de exudados azucarados (Bernardello, 2007). Son frecuentes en las flores de Rubiaceae y generalmente se encuentran sobre el ovario, rodeando la base del estilo (Robbrecht, 1988). Sin embargo, a pesar de ser frecuentemente mencionados, sobre todo en las descripciones de las especies, pocos estudios describen su anatomía (Galletto, 1998; Florentín *et al.*, 2016).

Otra estructura glandular que ha recibido mayor consideración en los últimos años debido a su valor taxonómico en la familia son los coléteres (Robbrecht, 1988; Thomas, 1991; De Block, 2003; Taylor, 2003, Judkevich *et al.*, 2017). Son estructuras pluricelulares que secretan mucílago (Solereeder, 1908; Robbrecht, 1988; Thomas, 1991), una mezcla de mucílago con sustancias lipídicas (Fahn, 1990) o resinas (Solereeder, 1908; Dave *et al.*, 1988; Thomas, 1991; Barreiro & Machado, 2007). Los coléteres tienen como función proteger los meristemas contra la desecación (Solereeder, 1908; Robbrecht, 1988; Thomas & Dave, 1989; Thomas, 1991; Appezzato-da-Gloria & Estelita, 2000; Klein *et al.*, 2004; Mayer *et al.*, 2013) y contra el ataque de insectos y patógenos (Miguel *et al.*, 2006). Estas estructuras están presentes en más de 65 familias de Angiospermas (Thomas & Dave, 1989; Muravnik *et al.*, 2014).

El coléter está constituido por un eje de células parenquimáticas alargadas, rodeado por una epidermis secretora compacta (Solereeder, 1908; Thomas 1991; Robbrecht, 1988; Gonzalez & Tarragó, 2009; Dave *et al.*, 1988). Esta organización estructural corresponde al tipo de coléter más común denominado “tipo estándar” (Lersten 1974a,b). En Rubiaceae, el eje parenquimático puede tener cristales de oxalato de calcio o incluso estar vascularizado (Thomas, 1991; Miguel *et al.*, 2003; Klein *et al.*, 2004, Miguel *et al.*, 2006, 2010; Coelho, 2013, Judkevich *et al.*, 2017), presentando valor taxonómico para distinguir las especies.

De acuerdo a su morfo-anatomía los coléteres en las Rubiáceas son clasificados en diferentes tipos: estándar, intermedio, dendroide, cepillo, estándar reducido, plumoso, alado filiforme (Lersten, 1974a, b; Robbrecht, 1988) y bifurcado (Coelho, 2013). Algunos autores como Thomas (1991), Robbrecht (1988) y Judkevich *et al.* (2017) mencionan ejemplos donde el tipo de coléter, su número y arreglo tienen importancia taxonómica en Rubiaceae. Lersten (1974a), realiza una interpretación evolutiva entre los tipos de coléteres en Rubiaceae y propone al coléter tipo estándar como el más ancestral.

En esta familia los coléteres se pueden encontrar tanto en órganos vegetativos como reproductivos (Robbrecht 1988; Thomas, 1991; Miguel *et al.*, 2009; Vitarelli & Santos 2009; Tresmondi *et al.*, 2015; Judkevich *et al.*, 2017). En Gardenieae, se localizan principalmente en la base de la cara interna tanto de estípulas como de sépalos, y excepcionalmente, en el ápice de estos órganos (Hallé, 1967). Los coléteres de las Rubiaceae son considerados emergencias debido a que se desarrollan a partir de la protodermis y del meristema subyacente (Dave *et al.*, 1988; Robbrecht, 1988; Thomas, 1991; Judkevich *et al.*, 2017).

ESTE CAPÍTULO TIENE COMO OBJETIVOS

- 1) Describir la morfología de las flores de las cinco especies teniendo en cuenta su sexualidad.
- 2) Detallar la estructura anatómica de las piezas del cáliz y la corola en todas las especies.
- 3) Describir la morfo-anatomía de estructuras secretoras - nectarios y coléteres - en las flores.

RESULTADOS

De las cinco especies analizadas, *Tocoyena formosa* es hermafrodita, presenta flores perfectas con ambos verticilos sexuales funcionales (FP). Las restantes especies analizadas: *Cordia concolor*, *Genipa americana*, *Randia calycina* y *R. sp. nov.* son especies dioicas, donde cada pie presenta flores morfológicamente perfectas que son funcionalmente unisexuales, solo un verticilo sexual es funcional, por lo tanto se describen como flores funcionalmente estaminadas (FFE) y funcionalmente pistiladas (FFP).

En la especie hermafrodita *T. formosa* y en las plantas con FFE de las especies dioicas (*Cordia*, *Genipa* y *Randia*), las flores están agrupadas en inflorescencias terminales multifloras, cimosas (Fig. 1 A, B, D, F, H), con las flores de cada inflorescencia en distintos grados de diferenciación (centrífugo). Sin embargo, en las plantas con FFP de las especies dioicas, las inflorescencias son unifloras (Fig. 1 C, E, G, I), y se han observado en campo que la diferenciación es uniforme entre todas las flores de una misma planta.

MORFOLOGÍA FLORAL

Las flores de *T. formosa*, *G. americana* y las especies de *Randia* en general son 5-meras, pero pueden haber variaciones 4 a 6-meras (Figs. 1-2, 4-6). En *C. concolor* las flores son generalmente 4-meras, menos frecuentemente 5-3-meras (Figs. 1, 3). La asimetría es actinomorfa en todas las especies. Las flores de mayor longitud son las de *T. formosa*; la variación de tamaño en relación a las restantes especies se muestra en la tabla 1.

TABLA 1. LONGITUD DE LAS FLORES.

Especies	FP (mm)	FFE (mm)	FFP (mm)
<i>T. formosa</i>	100-120	-	-
<i>C. concolor</i>	-	5-6	5-6
<i>G. americana</i>	-	35-40	38-50
<i>R. calycina</i>	-	16-20	27-32
<i>R. sp. nov.</i>	-	20-23	20-27

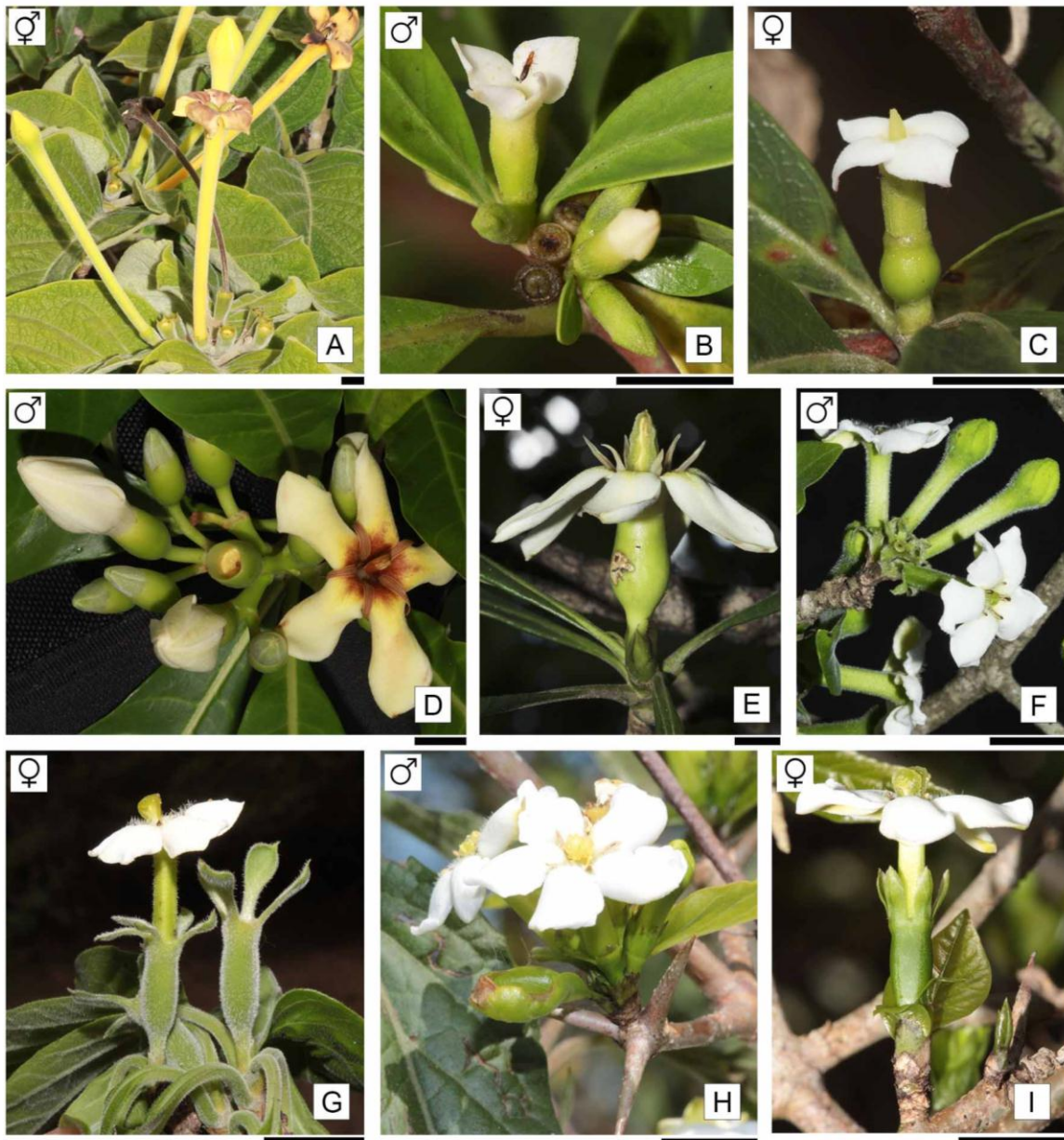


FIGURA 1. SEXUALIDAD E INFLORESCENCIAS. A. *Tocoyena formosa*. B-C. *Cordiera concolor*. D-E. *Genipa americana*. F-G. *Randia calycina*. H-I. *R. sp. nov.* A-B, D, F, H. Inflorescencias multifloras. C, E, G, I. Inflorescencias unifloras. Símbolos: ♀ flores perfectas, ♂ flores funcionalmente estaminadas, ♀ flores funcionalmente pistiladas. Escalas: A, D-I= 1 cm; B-C= 5 mm.

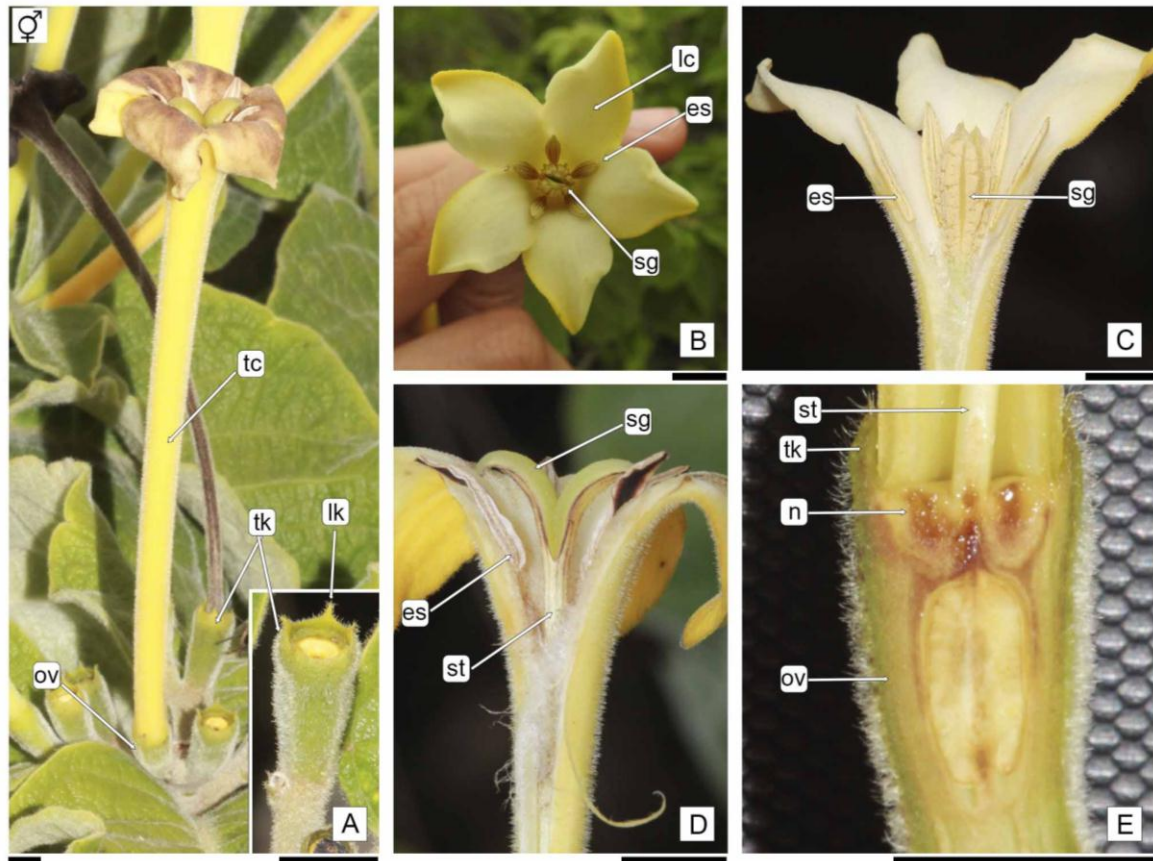


FIGURA 2. MORFOLOGÍA FLORAL DE *T. FORMOSA*. A. Flor completa, ángulo inferior derecho detalle del ovario y del cáliz. B. Vista superficial de la corola pentámera. C. Corte longitudinal (CL) de flor con los lóbulos del estigma cerrados y con polen depositado sobre el estigma. D. Corola con los lóbulos del estigma abiertos. E. CL a la altura del ovario mostrando posición del nectario e inserción de estilo. **Referencias:** es= estambre, lc= lóbulo de la corola, lk= lóbulo del cáliz, n= nectario, ov= ovario ínfero, sg= estigma, st= estilo, tc= tubo de la corola, tk= tubo del cáliz. **Escalas:** 5 mm.

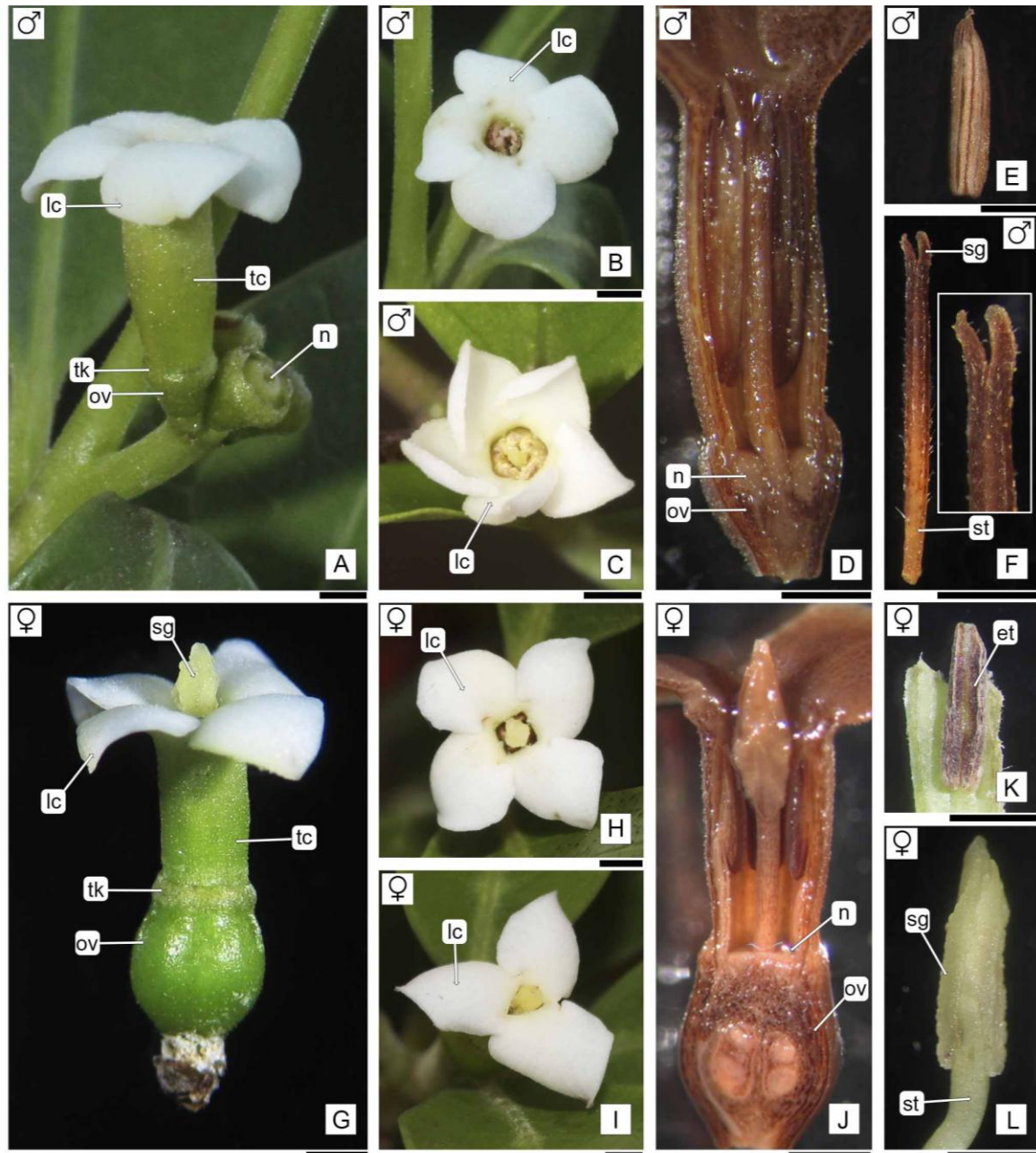


FIGURA 3. MORFOLOGÍA FLORAL DE *C. CONCOLOR*. A, G. Flor completa. B, H. Corola tetrámera. C. Corola pentámera. I. Corola trímica. D, J. Corte longitudinal de la flor. E. Antera dehiscente. F. Estilo y detalle del estigma (hacia la derecha). K. Estaminodio. L. Estilo y estigma. **Referencias:** es= estambre, et= estaminodio, lc= lóbulo de la corola, lk= lóbulo del cáliz, n= nectario, ov= ovario ínfero, sg= estigma, st= estilo, tc= tubo de la corola. **Escalas:** 1 mm.

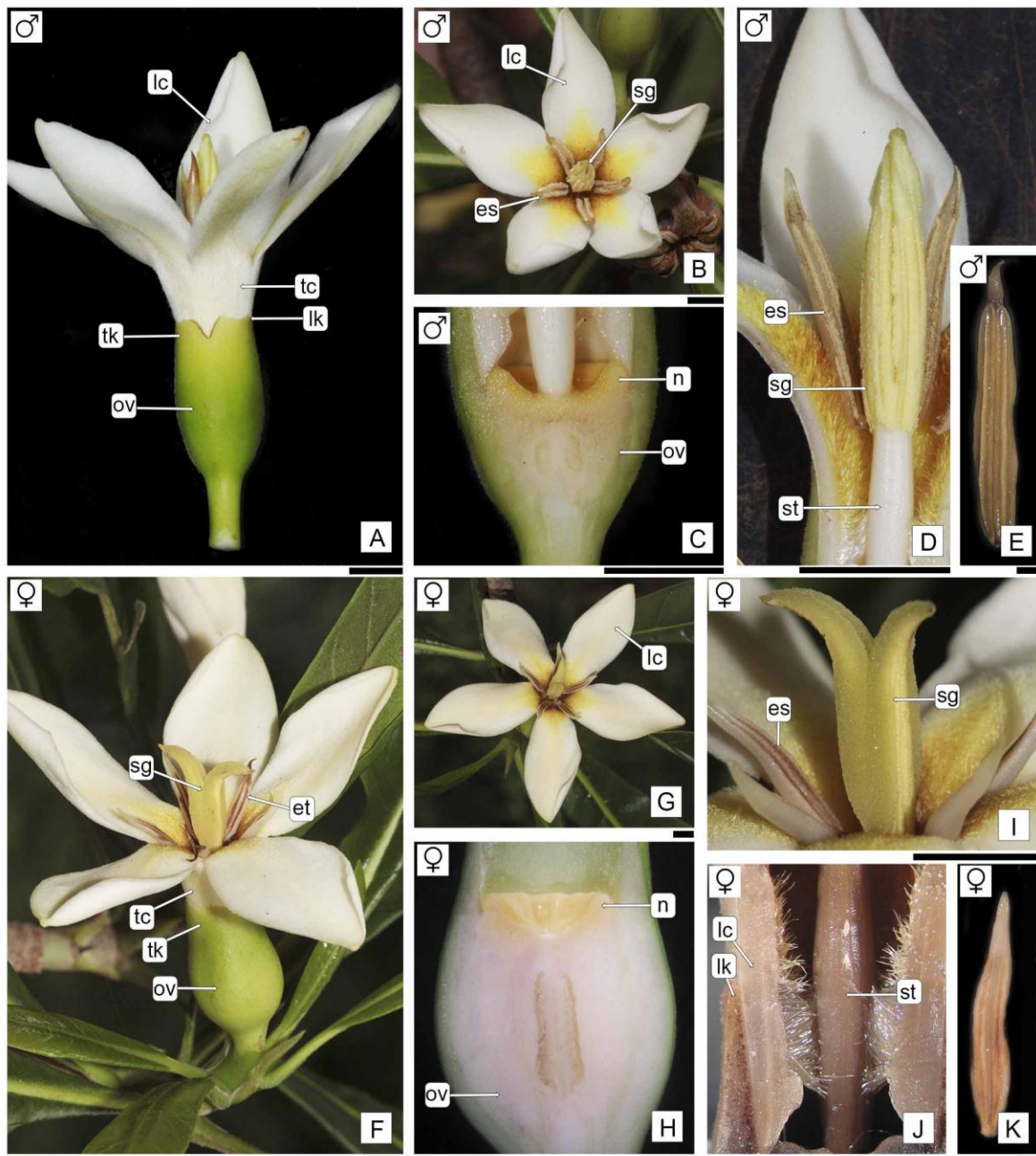


FIGURA 4. MORFOLOGÍA FLORAL DE *G. AMERICANA*. A, F. Flor completa. B, G. Corola pentámera. C, H. Corte longitudinal a la altura del ovario. D. Detalle del estigma con polen y el estilo. E. Antera dehiscente. I. Detalle del estigma. J. Detalle del estilo. K. Estaminodio. **Referencias:** es= estambre, et= estaminodio, lc= lóbulo de la corola, lk= lóbulo del cáliz, n= nectario, ov= ovario ínfero, sg= estigma, st= estilo, tc= tubo de la corola. **Escalas:** A-D, F-G, I= 5 mm; E, H, K= 8 mm; J= 1 mm.

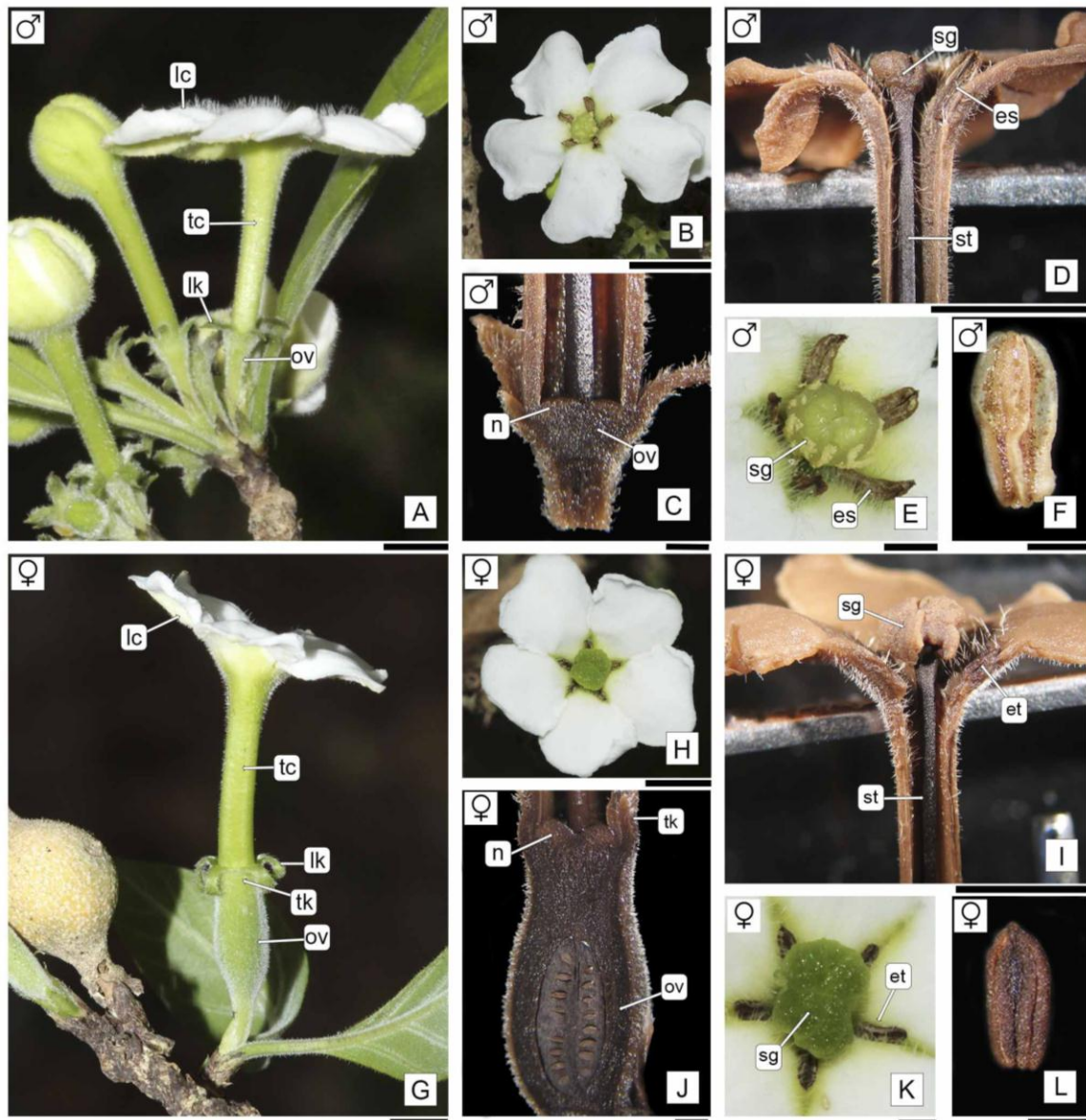


FIGURA 5. MORFOLOGÍA FLORAL DE *R. CALYCINA*. A, G. Flor completa. B, H. Corola pentámera. C, J. Corte longitudinal de ovario. D, I. Corte longitudinal de corola mostrando estigma y estilo. E, K. Detalle del estigma. F. Antera dehiscente. L. Estaminodio. **Referencias:** es= estambre, et= estaminodio, lc= lóbulo de la corola, lk= lóbulo del cáliz, n= nectario, ov= ovario ínfero, sg= estigma, st= estilo, tc= tubo de la corola, tk= tubo del cáliz. **Escalas:** A-B, D, G-I= 5 mm; C, E-F, J-L= 1 mm.

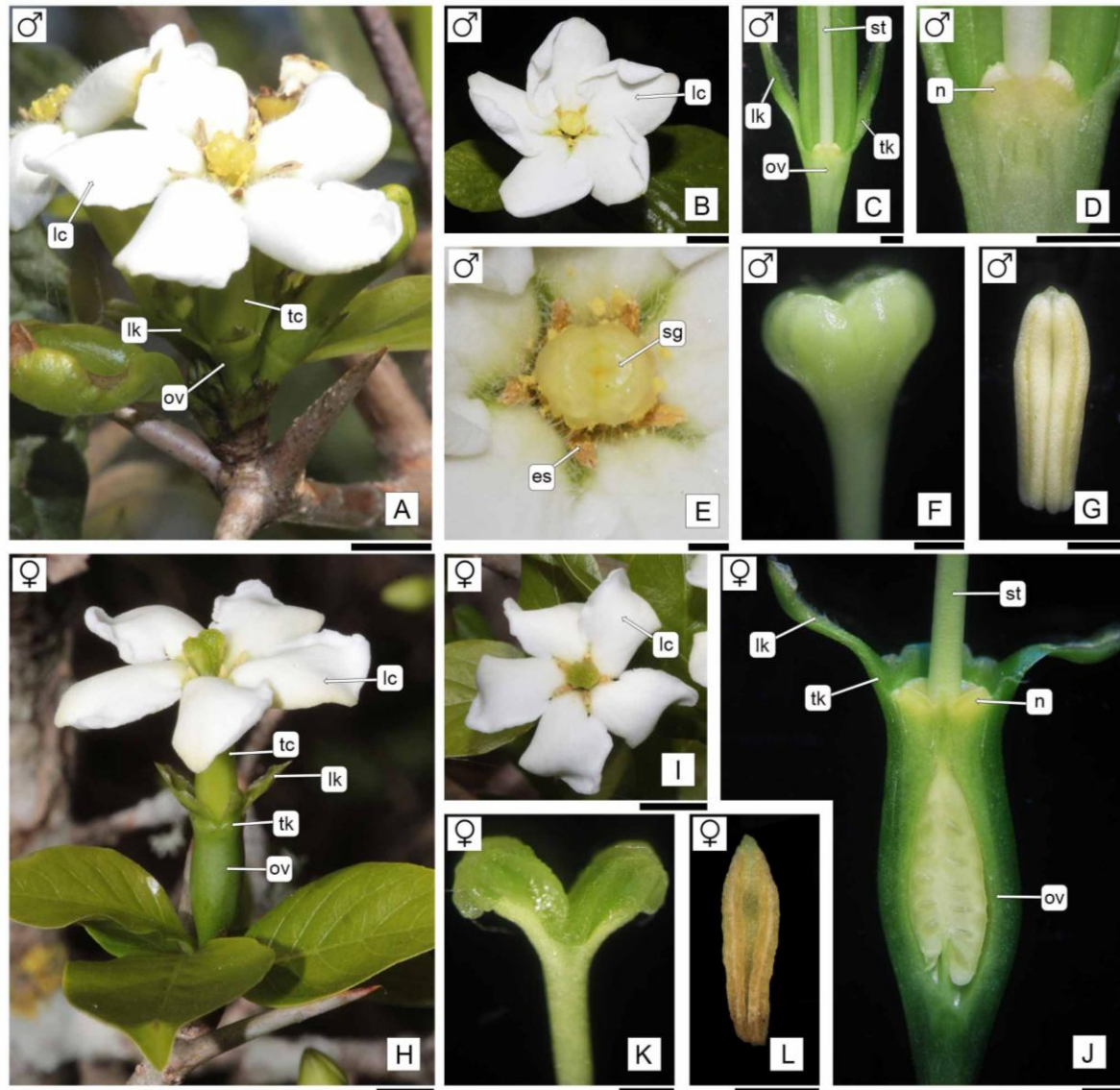


FIGURA 6. MORFOLOGÍA FLORAL DE *R. SP. NOV.* A, H. Flor completa. B, I. Corola pentámera. C, J. Corte longitudinal de ovario. D. Detalle de corte longitudinal de flor mostrando la posición del nectario. E-F. Detalle de estigma de la FFE en vista superficial (E) y lateral (F). G. Antera dehiscente. K. Detalle de estigma de la FFP. L. Estaminodio. **Referencias:** es= estambre, lc= lóbulo de la corola, lk= lóbulo del cáliz, n= nectario, ov= ovario, sg= estigma, st= estilo, tc= tubo de la corola, tk= tubo del cáliz. **Escala:** A-B, H-I= 5 mm; C-G, J-L= 1 mm.

PERIANTO

A continuación se describe la morfología y la anatomía de las piezas del perianto. En la tabla 2 se detallan características de la morfología e indumento del perianto de cada especie.

Cáliz

En todas las especies es de color verde. En *C. concolor* el cáliz está formado por un pequeño tubo de borde entero, sin lóbulos (Fig. 3 A, G). En las otras especies los sépalos están fusionados en la base formando un tubo y con sus extremos libres. Los lóbulos del cáliz presentan diferencias entre las especies, en *T. formosa* son triangulares y cortos (Fig. 2 A), en *G. americana* son ampliamente triangulares y cortos (Fig. 4 A, F), en las especies de *Randia* son lanceolados (Figs. 5 A, 6 A, H), excepto en las FFP de *R. calycina* en la que los lóbulos son oblanceolados o espatulados (Fig. 5 G). En *Randia sp. nov.* el cáliz es glabro, encontrándose tricomas cortos solo en el margen de los lóbulos. En el resto de las especies los tricomas se encuentran en la cara externa del cáliz, siendo muy abundantes en *T. formosa* y *R. calycina*.

En todos los casos los tricomas pueden ser de dos tipos:

- 1) unicelulares
- 2) pluricelulares uniseriados, con 2 a 5 células.

En ambos tipos de tricomas las paredes pueden ser celulósicas o lignificadas.

TABLA 2. CARACTERES MORFOLÓGICOS DEL PERIANTO EN LAS ESPECIES ANALIZADAS DE GARDENIEAE. Referencias: C= pared celulósica; co= coléteres; Ext= externo; G= garganta del tubo de la corola; Int= interno; L= pared lignificada; Lob= lóbulos; Pu= tricoma pluricelular uniseriado; U= tricoma unicelular; += presencia; -= ausencia.

Especies	Cáliz			Corola			Indumento				
	Lóbulos	Tubo	Co	Lóbulos	Tubo	Garganta	Cáliz		Corola		
							Lob	Tubo	Lob	Tubo	G
<i>T. formosa</i> Figs. 2, 7	Presentes. Triangulares. Ext: pubescentes Int: glabros	Ext: pubescente Int: glabro	+	Amarillos. Ovoides a oblongos. Ext: glabro Int: glabro	Amarillo. Ext: pubescente Int: glabro	Pubescente	Ext: UL Int: -	Ext: UL Int: -	Ext: - Int: -	Ext: PuC Int: PuC	PuC
<i>C. concolor</i> Figs. 3, 8	Ausentes	Ext: pubérulo Int: glabro	+	Blancos. Deltoideos o ampliamente triangulares Ext: pubérulo Int: glabro	Verde. Ext: glabro o pubérulo Int: glabro	Pubérula	Ext:- Int:-	Ext: UL Int:-	Ext: UL Int: -	Ext: UL Int: -	UL
<i>G. americana</i> Figs. 4, 9	Presentes. Ampliamente triangulares. Ext: pubescentes Int: pubescentes	Ext: pubérulo Int: pubérulo	-	Blancos. Ovoides a oblongos. Ext: pubescente Int: pubescente	Blanco, Ext: pubescente Int: pubescente	Pubescente	Ext: U/PuL Int: U/PuL	Ext:U/Pu L Int:UPuL	Ext: UL Int: UL	Ext: UL Int: PuC	PuC
<i>R. calycina</i> Fig. 5, 10	Presentes. Lanceolados (en FFP generalmente espatulados). Ext. Pubescentes Int: pubescentes	Verde, externamente pubescente	-	Blancos. Ovoides a oblongos. Ext. Pubescente Int: pubescente	Verde. Ext: pubescente Int: glabro	Pubescente	Ext: UL Int: UL	Ext: UL Int: UL	Ext: UL Int: UL	Ext: UL Int: UC	UL
<i>R. sp. nov.</i> Fig. 6, 11	Presentes. Lanceolados. Ext: glabro Int: glabro Margen: pubérulo	Verde, gabro	-	Blancos. Ovoides a oblongos. Ext: glabro Int: glabro	Verde Ext: glabro Int: glabro	Pubescente	Ext:- Int:- Margen: UC	Ext:- Int:-	Ext:- Int:-	Ext:- Int:-	UL

Anatomía del cáliz

Lóbulos libres (Figs. 7 A-D, 9 A-E, 10 A-C, 11 A-D): la epidermis externa presenta células de mayor tamaño que la epidermis interna (la situación inversa se da en *R. sp. nov.*). En *T. formosa* y *R. calycina* son de contorno circular, en *G. americana* y *R. sp. nov.* son cuadrangulares a redondeadas. Los estomas solo se observaron en la epidermis externa, al mismo nivel o más elevados que las células que los rodean. La epidermis interna tiene células de contorno cuadrangular a rectangular en *T. formosa*, *G. americana* y *R. sp. nov.*, y circular en *R. calycina*. En *R. sp. nov.* las células tienen paredes engrosadas.

El mesófilo es homogéneo y compacto, presenta células poligonales y circulares. Hay drusas. Células con taninos se observaron en *T. formosa* y *G. americana*. En *T. formosa* hay varias capas de colénquima adyacentes a la epidermis interna. Hay haces vasculares colaterales en *T. formosa* y en ambas especies de *Randia* en las que también puede haber fibras. En *G. americana* no hay haces vasculares.

Tubo del cáliz (Figs. 7 E-G, 8 A-C, 9 F-J, 10 D-F, 11 E-G): en *T. formosa* y las especies de *Randia* el tubo del cáliz presenta características similares a las de los lóbulos libres. En *T. formosa* se diferencia por la presencia de colénquima en ambas caras y haces vasculares colaterales. En *R. calycina* el tubo difiere de los lóbulos en que la epidermis interna no presenta tricomas. En *R. sp. nov.* difiere en que las células de la epidermis interna son más alargadas tangencialmente y en que hay 2-3 estratos del parénquima adyacente a la epidermis externa que tiene las células más pequeñas.

En *C. concolor* ambas epidermis del tubo presentan células de contorno rectangular. En la epidermis externa hay algunos tricomas unicelulares simples y estomas elevados. El mesófilo consta de 4-5 capas de células rectangulares a ovoideas. Presenta drusas, taninos y haces vasculares colaterales.

En *G. americana* ambas epidermis tienen células de contorno rectangular. La epidermis externa con células de mayor tamaño que en la epidermis interna. El mesófilo tiene células poligonales, siendo las más pequeñas las adyacentes a la epidermis externa. Por debajo de la epidermis interna se observa colénquima. Hay drusas e Idioblastos con tanino. Los haces vasculares son colaterales.

Corola

En todas las especies es hipocrateriforme. Los pétalos están fusionados en la base formando un tubo y los lóbulos se encuentran libres en la parte superior (Figs. 1 A-I; 2 A; 3 A, G; 4 A, F; 5 A, G; 6 A, H). El tubo es verde en *C. concolor* y en las especies de *Randia*, mientras que en *T. formosa* y *G. americana* es del mismo color que los lóbulos. En *T. formosa* los lóbulos son amarillos, mientras que en el resto de las especies son blancos. La forma de los mismos es ovoide a oblonga en *T. formosa*, *G. americana* y *R. spp.*, mientras que en *C. concolor* son deltoideos o ampliamente triangulares (Figs. 2 B; 3 B-C, H-I; 4 B, G; 5 B, H; 6 B, D). Los lóbulos de la corola presentan tricomas en *C. concolor*, *G. americana* y *R. calycina* (se detallan en la tabla 2). Solo en *C. concolor* la garganta del tubo es pubérula, en el resto de las especies es pubescente. Externamente el tubo es pubescente en *T. formosa*, *G. americana* y *R. calycina*, y glabro o pubérulo en *C. concolor* y *R. sp. nov.* En todos los casos los tricomas pueden ser de dos tipos: unicelulares y pluricelulares uniseriados, con paredes lignificadas o no en ambos casos.

Anatomía de la corola

Lóbulos libres (Figs. 7 H-K, 8 D-G, 9 K-N, 10 G-J, 11 H-J): ambas epidermis son uniestratificadas. Los estomas se encuentran únicamente en la epidermis externa, presentan cámara estomática y están más elevados que las células que los rodean (levemente hundidos en *G. americana*). La epidermis externa presenta células epidérmicas propiamente dichas de contorno cuadrangular a poligonal en *T. formosa*, rectangular a ovoideo en *C. concolor*, cuadrangular en *G. americana* y poligonal en las especies de *Randia*. En ambas especies de *Randia* puede haber papilas. La epidermis interna es papilosa en *C. concolor* y en las especies de *Randia*. En *T. formosa* y *G. americana* las células de la epidermis interna son comparativamente más grandes que las de la epidermis externa.

El mesófilo es homogéneo y presenta células de contorno poligonal o circular. En *G. americana* hay células más pequeñas adyacentes a cada epidermis y en *R. sp. nov.* adyacentes a la epidermis interna. En ambas especies de *Randia* el mesófilo posee espacios lagunares. En *C. concolor* y *G. americana* hay taninos, en la segunda especie son células de gran tamaño. Salvo en *R. calycina*, en el resto de las especies se observaron drusas. Los haces vasculares son colaterales con xilema interno y floema externo.

Tubo de la corola (Figs. 7 L-K, 8 H-J, 9 O-W, 10 K-P, 11 K-P): en todas las especies, la porción apical del tubo es similar a la de los lóbulos libres pero carecen de estomas (salvo en *T. formosa*). Las principales diferencias se dan hacia la base del tubo, que presenta la epidermis interna con paredes lignificadas y en algunos casos esto sucede también en las primeras capas de células subepidérmicas.

En *T. formosa* la región apical del tubo presenta tricomas pluricelulares, simples, uniseriados y lignificados. El mesófilo consta hacia la cara externa de un parénquima compacto con células de contorno circular y hacia la cara interna de un parénquima más laxo con espacios intercelulares grandes. No se observaron drusas ni taninos. Los haces vasculares son colaterales. Hacia la base del tubo, la epidermis externa presenta células alargadas longitudinalmente de contorno rectangular a elíptico. La epidermis interna presenta células más pequeñas, de contorno rectangular y con paredes lignificadas. El mesófilo es homogéneo y compacto. Las capas adyacentes a la epidermis externa presentan colénquima, las adyacentes a la epidermis interna presentan las paredes lignificadas. Los haces vasculares son colaterales y concéntricos con xilema interno.

En *C. concolor* el tubo de la corola difiere de los lóbulos libres en que la epidermis interna tiene células redondeadas y el parénquima posee células de mayor tamaño. En la base del tubo solo la epidermis interna está lignificada.

En *G. americana* la base del tubo presenta la epidermis interna con células notablemente más voluminosas que las de la epidermis externa, con paredes lignificadas y con tricomas simples, unicelulares, lignificados y de gran longitud. Más hacia la base del tubo, ambas epidermis y las 3-4 capas de células subepidérmicas adyacentes a la epidermis interna tienen células lignificadas.

En *R. calycina*, en la región apical del tubo la epidermis externa presenta células poligonales a circulares. La epidermis interna consta de papilas y tricomas simples. Hacia la base del tubo el mesófilo es compacto y las células epidérmicas internas son más pequeñas y lignificadas.

En *R. sp. nov.* la región apical del tubo presenta la epidermis externa con células de contorno ovoideo. La epidermis interna consta de papilas y tricomas simples. Hacia la base del tubo el mesófilo es compacto y las células de la epidermis externas son alargadas tangencialmente. Ambas epidermis y las células adyacentes a la epidermis interna están lignificadas.

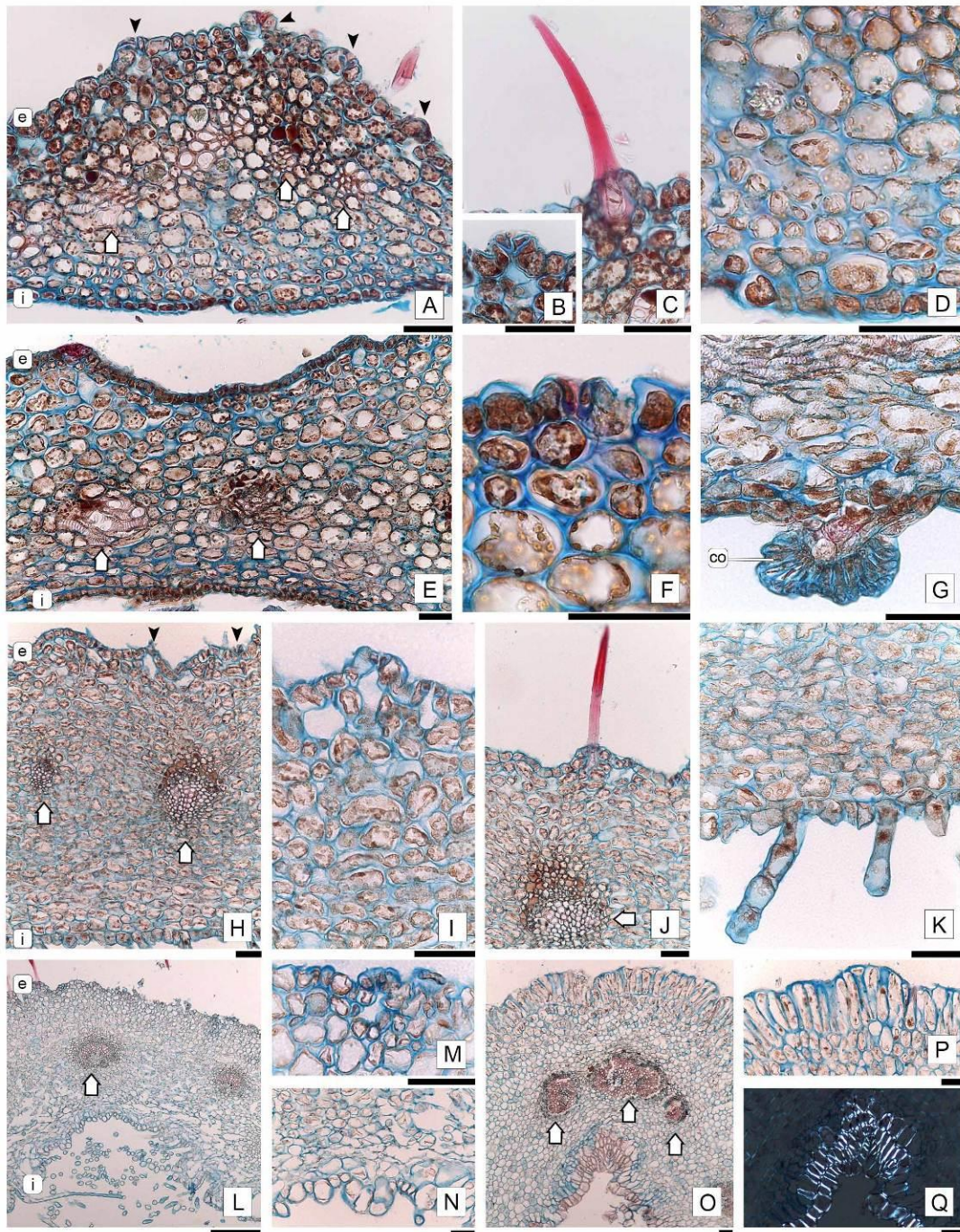


FIGURA 7. ANATOMÍA DEL PERIANTO DE *T. FORMOSA*. **A-D.** Lóbulos del cáliz. **A.** Corte transversal (CT) lóbulo. **B.** Estoma. **C.** Tricoma unicelular lignificado. **D.** Detalle de la epidermis interna y del mesófilo con colénquima. **E-G.** Tubo del cáliz. **E.** CT del tubo. **F.** Epidermis externa con estoma. **G.** Epidermis interna y parte del mesófilo, se observa un coléter standard. **H-K.** Lóbulos de la corola. **H.** CT del lóbulo. **I.** Epidermis externa con un estoma. **J.** Epidermis externa con un tricoma unicelular lignificado y parte del mesófilo. **K.** Epidermis interna con pelos pluricelulares celulósicos. **L-Q.** Tubo de la corola. **L.** CT a la altura de la zona media. **M.** Epidermis externa y estoma. **N.** Epidermis interna. **O.** CT a la altura de la base del tubo. **P.** Epidermis externa. **Q.** Epidermis interna con luz polarizada (corresponde a foto **O**). **Referencias:** co= coléter, e= epidermis externa, i= epidermis interna. Flechas blancas señalan haces vasculares. Puntas de flechas negras señalan estomas. **Escala:** 50 μ m.

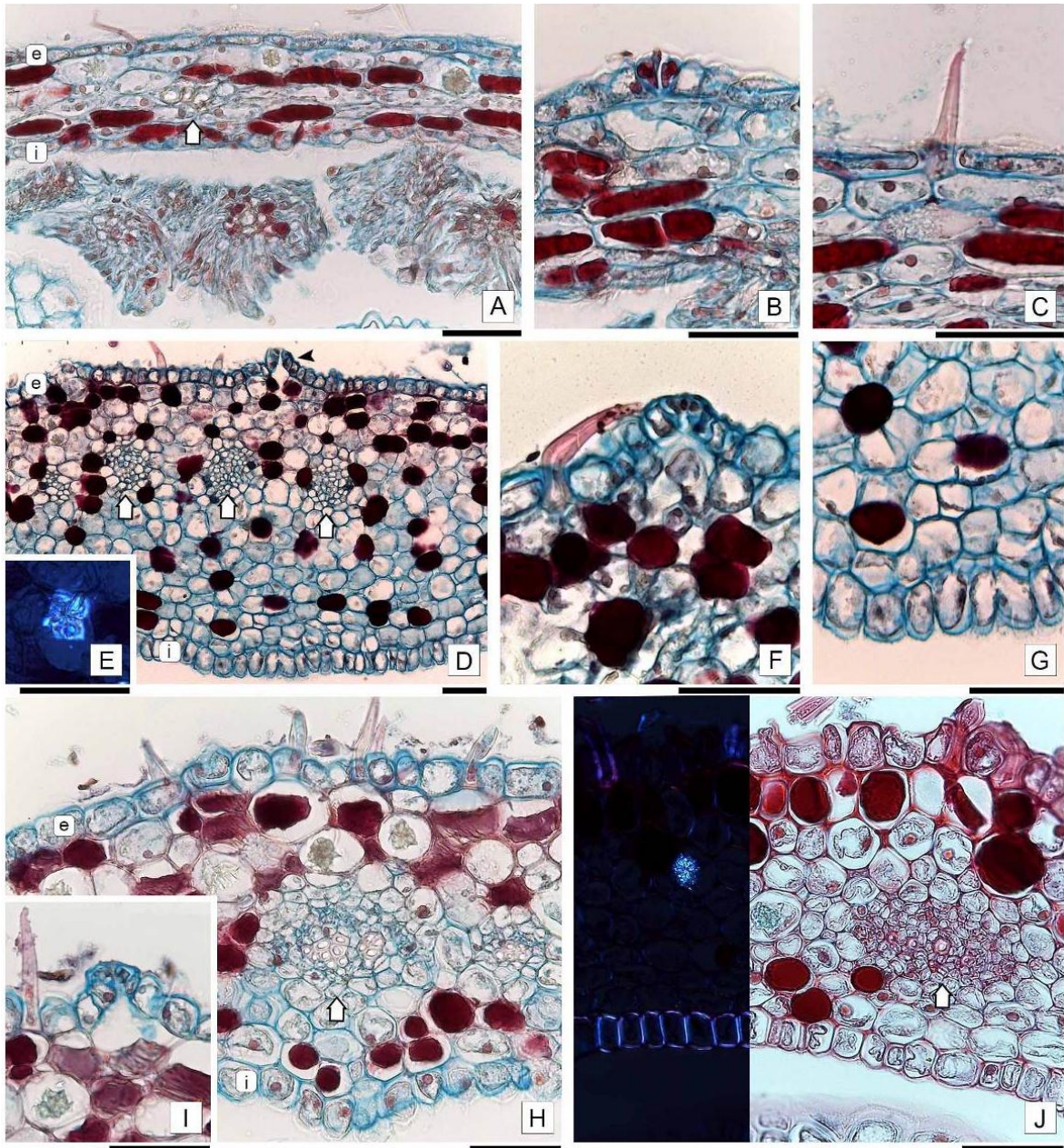


FIGURA 8. ANATOMÍA DEL PERIANTO DE *C. CONCOLOR*. A-C. Tubo del cáliz. A. Corte transversal (CT), se observan coléteres. B. Detalle del CT donde se observa un estoma. C. Tricoma unicelular lignificado. D-G. Lóbulos de la corola. D. CT de un lóbulo. E. Detalle de una drusa observada con luz polarizada. F. Epidermis externa, un tricoma unicelular lignificado y un estoma. G. Detalle de la epidermis interna. H-J. Tubo de la corola. H. CT de la zona media del tubo. I. Detalle de un estoma, un tricoma unicelular lignificado y una drusa. J. CT a la altura de la base del tubo, hacia la izquierda observado con luz polarizada mostrando drusa y epidermis lignificada. **Referencias:** co= coléter, e= epidermis externa, i= epidermis interna. Flechas blancas señalan haces vasculares. Puntas de flechas negras señalan estomas. **Escalas:** 50 μ m.

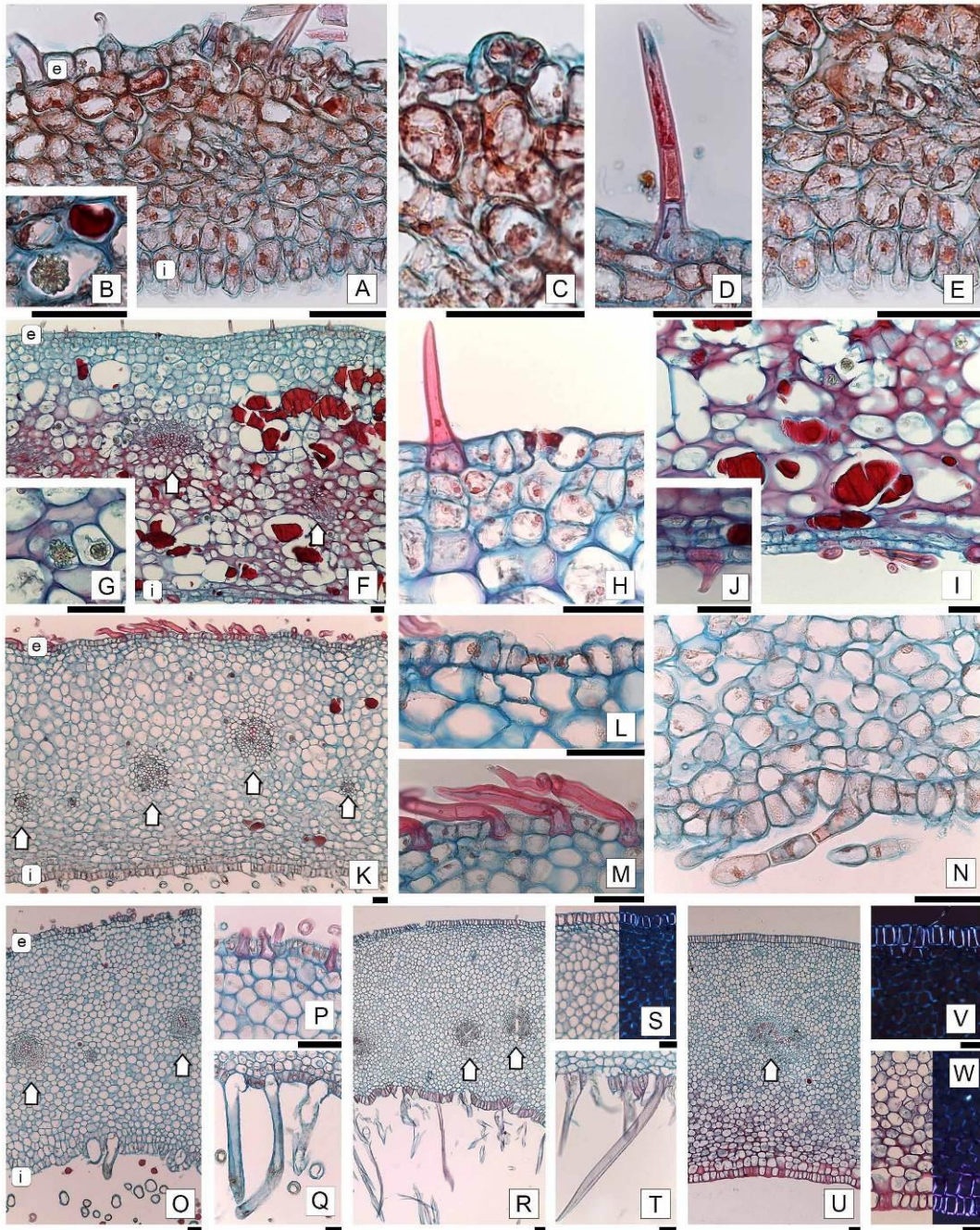


FIGURA 9. ANATOMÍA DEL PERIANTO DE *G. AMERICANA*. A-E. Lóbulos del cáliz. A. Corte transversal (CT) del lóbulo. B. Drusa. C. Epidermis externa (EE) con estoma. D. Tricoma pluricelular lignificado. E. EE y parte del mesófilo. F-I. Tubo del cáliz. F. Porción del tubo. G. Drusa. H. EE con tricoma unicelular lignificado y estoma. I. Región interna del tubo. J. Detalle de la epidermis interna (EI) y un tricoma unicelular lignificado. K-N. Lóbulos de la corola. K. CT del lóbulo. L-M. EE. L. Estoma. M. Tricomas unicelulares lignificados. N. Región interna del lóbulo, pelo pluricelular celulósico. O-W. Tubo de la corola. O-Q. CT a la altura de la región apical. P. Detalle de EE. Q. Detalle de EI y pelos unicelulares celulósicos. R-T. CT a la altura de la zona media. S. Detalle de la EE, hacia la derecha con luz polarizada. T. Detalle de la EI y pelos unicelulares lignificados. U-W. CT a la altura de la base. V. Detalle de la EE con luz polarizada. W. Detalle de la EI, hacia la derecha con luz polarizada. **Referencias:** e= epidermis externa, i= epidermis interna. Flechas blancas señalan haces vasculares. Puntas de flechas negras señalan estomas. **Escalas:** 50 μ m.

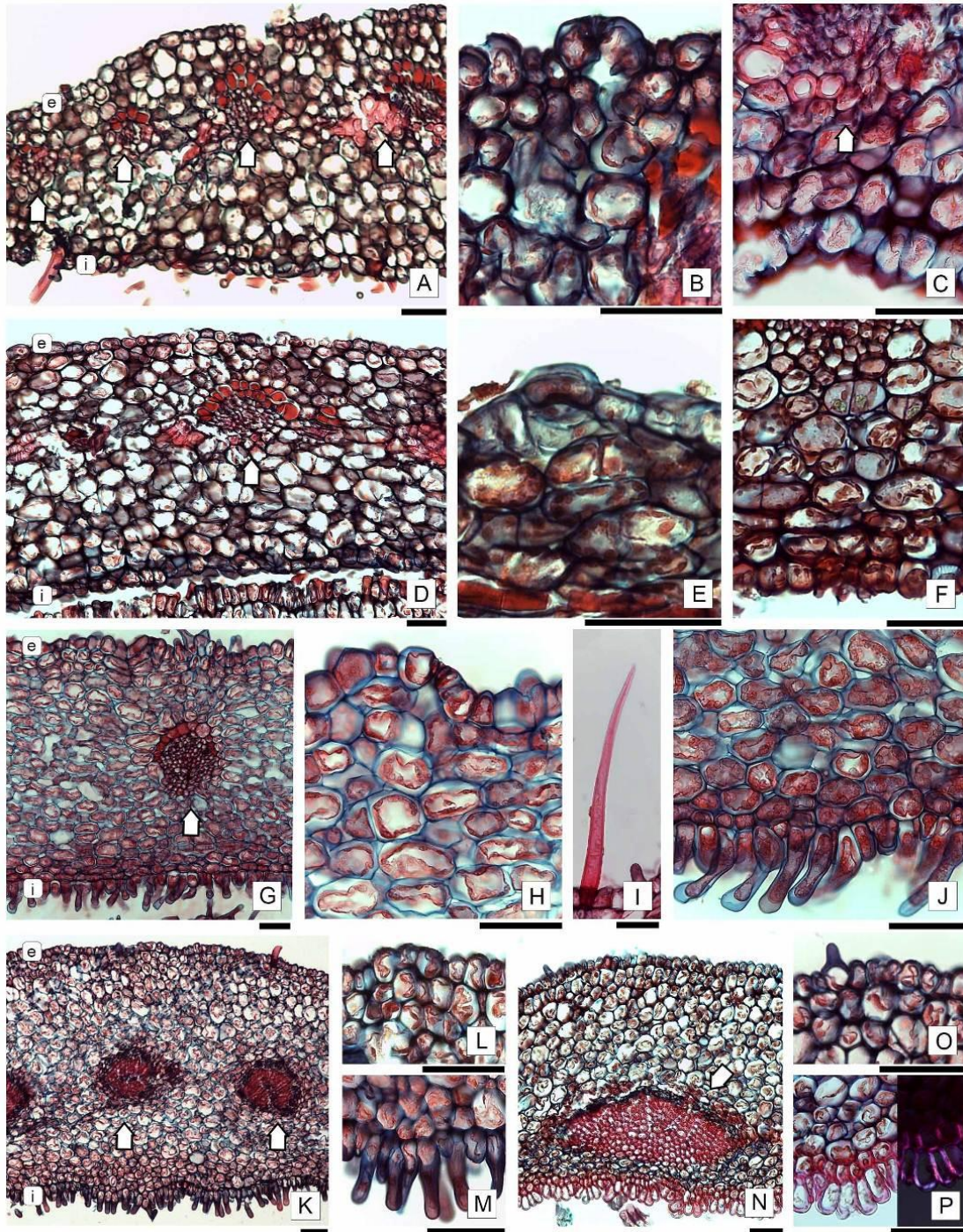


FIGURA 10. ANATOMÍA DEL PERIANTO DE *R. CALYCINA*. A-C. Lóbulos del cáliz. A. Corte transversal (CT) del lóbulo. B. Epidermis externa con estoma, note la célula con drusa en el mesófilo. C. Epidermis interna y parte del mesófilo. D-F. Tubo del cáliz. D. Porción del tubo. E. Epidermis externa con estoma. F. Epidermis interna y parte del mesófilo. G-J. Lóbulos de la corola. G. Porción de un lóbulo. H. Epidermis externa con estoma. I. Tricoma pluricelular lignificado. J. Epidermis interna con papilas. K-P. Tubo de la corola. K-M. CT a la altura de la región media. L. Epidermis externa. M. Epidermis interna con papilas. N-P. CT a la altura de la base. O. Epidermis externa. P. Epidermis interna, a la derecha con luz polarizada. **Referencias:** e= epidermis externa, i= epidermis interna. Flechas blancas señalan haces vasculares. **Escalas:** 50 μ m.

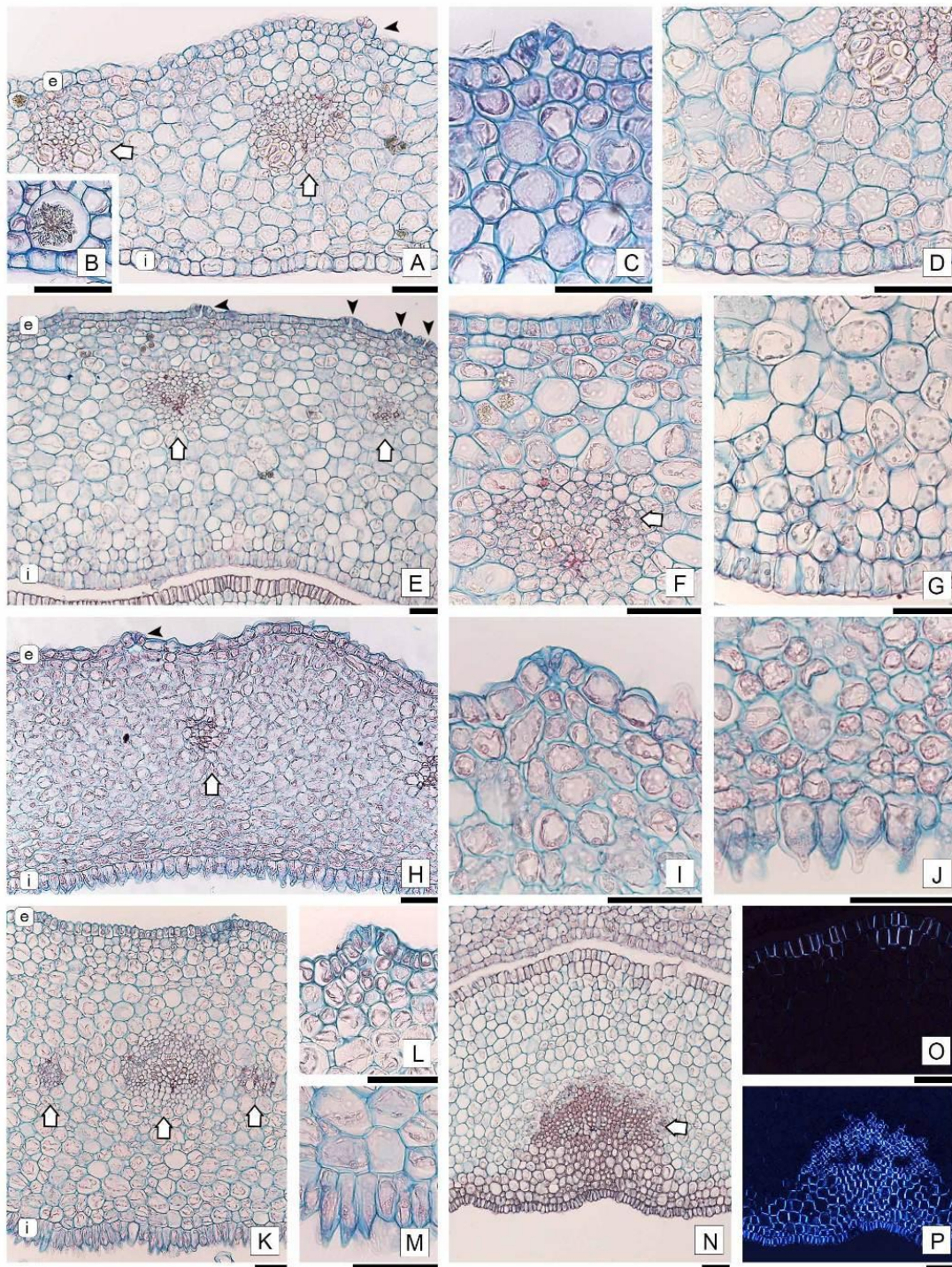


FIGURA 11. ANATOMÍA DEL PERIANTO DE *R. SP. NOV.* A-D. Lóbulos del cáliz. A. Corte transversal del lóbulo. B. Célula con drusa. C. Epidermis externa con un estoma y parte del mesófilo. D. Epidermis interna y parte del mesófilo. E-G. Tubo del cáliz. E. Porción del tubo. F. Epidermis externa con un estoma y porción del mesófilo con drusas y haz vascular. G. Epidermis interna y parte del mesófilo. H-J. Lóbulo de la corola. H. Porción del lóbulo. I. Epidermis externa con estoma. J. Epidermis interna con papilas. K-P. Tubo de la corola. K-L. Corte a la altura de la región media. L. Epidermis externa con estoma. M. Epidermis interna con papilas. N-P. Corte a la altura de la base. O. Epidermis externa con luz polarizada. P. Epidermis interna y parte del mesófilo con luz polarizada. **Referencias:** e= epidermis externa, i= epidermis interna. Flechas blancas señalan haces vasculares. Puntas de flechas negras señalan estomas. **Escala:** 50 μ m.

VERTICILLOS SEXUALES

Se describe aquí la morfología del androceo y del gineceo. Su estructura anatómica se detalla en sus respectivos capítulos (II y III).

Androceo

Las anteras son infra-dorsifijas y semi-exertas, se encuentran soldadas a la corola por un corto filamento, alternas a los lóbulos (Figs. 2 B; 3 C; 4 B, D, G; 5 E, K; 6 E, I). El tejido conectivo en *G. americana* es cónico y se extiende dando a las anteras la forma sagitada. En las especies dioicas, la antera madura de las FFP y FFE tiene dehiscencia longitudinal y produce granos de polen (Figs. 2 C-C; 3 D, E; 4 E; 5 F, 6 G). En las FFP las anteras son indehiscentes y están vacías constituyendo estaminodios (Figs. 3 J, K; 4 K; 5 L; 6 E), además, en comparación con las anteras de las FFE, son de menor tamaño.

Gineceo

El ovario es ínfero. En las FP (Fig. 2 A, E) y FFP (Figs. 3 A, D; 4 A, C; 5 A, C; 6 C, D) es bicarperlar, bilocular, con placentación axilar y numerosos óvulos por lóculo, mientras que en las FFE (Figs. 3 G, J; 4 F, H; 5 G, J; 6 H, J) está poco desarrollado, presentando uno o dos lóculos pequeños, con tejido placentario y sin formación de óvulos. En *T. formosa* es obovoide, en las flores pistiladas de *C. concolor* y *G. americana* es globoso y en las especies de *Randia* es urceolado. En las FFE generalmente es obcónico (solo en *G. americana* la forma es similar a la de la FFP).

El estilo es único. La forma es cilíndrica (Figs. 2 D; 3 D, F, J, L; 5 D, I; 6 C, F, J, K), salvo en *G. americana* que es levemente fusiforme (Fig. 4 D, J). En general es glabro, pero en las FFE de *C. concolor* puede ser pubérulo. La superficie del estilo al igual que la del estigma presenta generalmente 10 surcos longitudinales en las FFE de *C. concolor*, en ambos tipo de flores de *G. americana* y en las flores de *T. formosa*. En esta última los surcos se encuentran en la mitad superior del estilo. Estos surcos se forman por la presión que ejercen las tecas de las anteras sobre el estilo y estigma en los estadios jóvenes de la ontogénesis floral (ver capítulo IV, Estrategias Reproductivas).

El estigma es bífido en las FFE de *C. concolor* (Fig. 3 F) y bilobado en el resto de las flores (2 B-D; 3 G, J, L; 4 D, I; 5 D-E, I, K; 6 E-F, I, K). La superficie del estigma es papilosa en las FP y en las FFP, mientras que las FFE de *G. americana* y *Randia spp.* presentan la superficie con surcos. En las FFE de *C. concolor* el estigma presenta la superficie lisa.

ESTRUCTURAS SECRETORAS

Nectario floral

Todos los tipos florales presentan un nectario floral (NF) en forma de disco o anillo plano en la superficie libre apical del ovario (Figs. 2 A, E; 3 A, D, J; 4 C, H; 5 C, J; 6 D, J; 12 A-B, D-E, G-H, J-K, M-N). Por su posición se los describe como epíginos. En todas las especies los NF son amarillo-verdosos y glabros. En *G. americana* los nectarios están deprimidos en dirección al estilo (Fig. 4 C, H). En *G. americana* y *R. calycina*, la superficie es lobulada (Fig. 12 G-H, J-K), el número de lóbulos coincide con el número de tecas de las anteras. La cutícula es lisa en todas las especies y presentan nectarostomas (Fig. 12 C, F, I, L, O).

Anatómicamente los nectarios de las especies analizadas están formados por una epidermis nectarífera, parénquima nectarífero y parénquima subnectarífero (Fig. 13 A-B, D-E, G-I, K-M, O-Q). En *T. formosa* y en *C. concolor* el parénquima nectarífero es notablemente más voluminoso que el parénquima subnectarífero.

Epidermis nectarífera: las células epidérmicas son poligonales en vista superficial y tienen contorno rectangular en corte longitudinal. Especialmente en los nectarios de *G. americana* las células epidérmicas del NF son de mayor tamaño que las células del parénquima nectarífero. Los nectarostomas pueden estar al mismo nivel que el resto de las células epidérmicas o ligeramente más elevados y con pequeñas cámaras subestomáticas. En vista superficial solo están formados por células oclusivas, sin células anexas. La cutícula que cubre al nectario es notablemente gruesa en todas las especies, puede ser más delgada en la región del nectarostoma e interrumpirse en el ostiolo (Fig. 13 C, F, J, N, R).

Parénquima nectarífero: en todas las especies es homogéneo y presenta varias capas de células pequeñas, de contorno poligonal o circular, con citoplasma denso. La presencia de drusas se registró en *G. americana*, siendo más abundantes en los nectarios de las FFE. El parénquima subnectarífero está formado por células de mayor tamaño que las del parénquima nectarífero y hasta él llegan pequeños haces derivados de la pared del ovario. En *T. formosa* y en *C. concolor*, el parénquima subnectarífero proporcionalmente es mucho más reducido que el parénquima nectarífero. En los nectarios de las otras especies ambos tejidos tienen similar proporción. Las trazas de floema tienen una innervación más profunda en el parénquima subnectarífero.

Observaciones de campo: durante la colecta de material se observó que en todas las especies analizadas de *Gardenieae* los NF están activos con evidente secreción y visita de

abejas y mariposas durante el período de antesis. Estos nectarios continúan siendo visitados por hormigas (se han observado también abejas) luego de la caída del perianto y de los estambres, e incluso durante los primeros estadios de diferenciación de los frutos (Fig. 14 A-G). En los frutos maduros, los nectarios persisten pero ya no son visitados por insectos y adquieren un color marrón a negruzco.

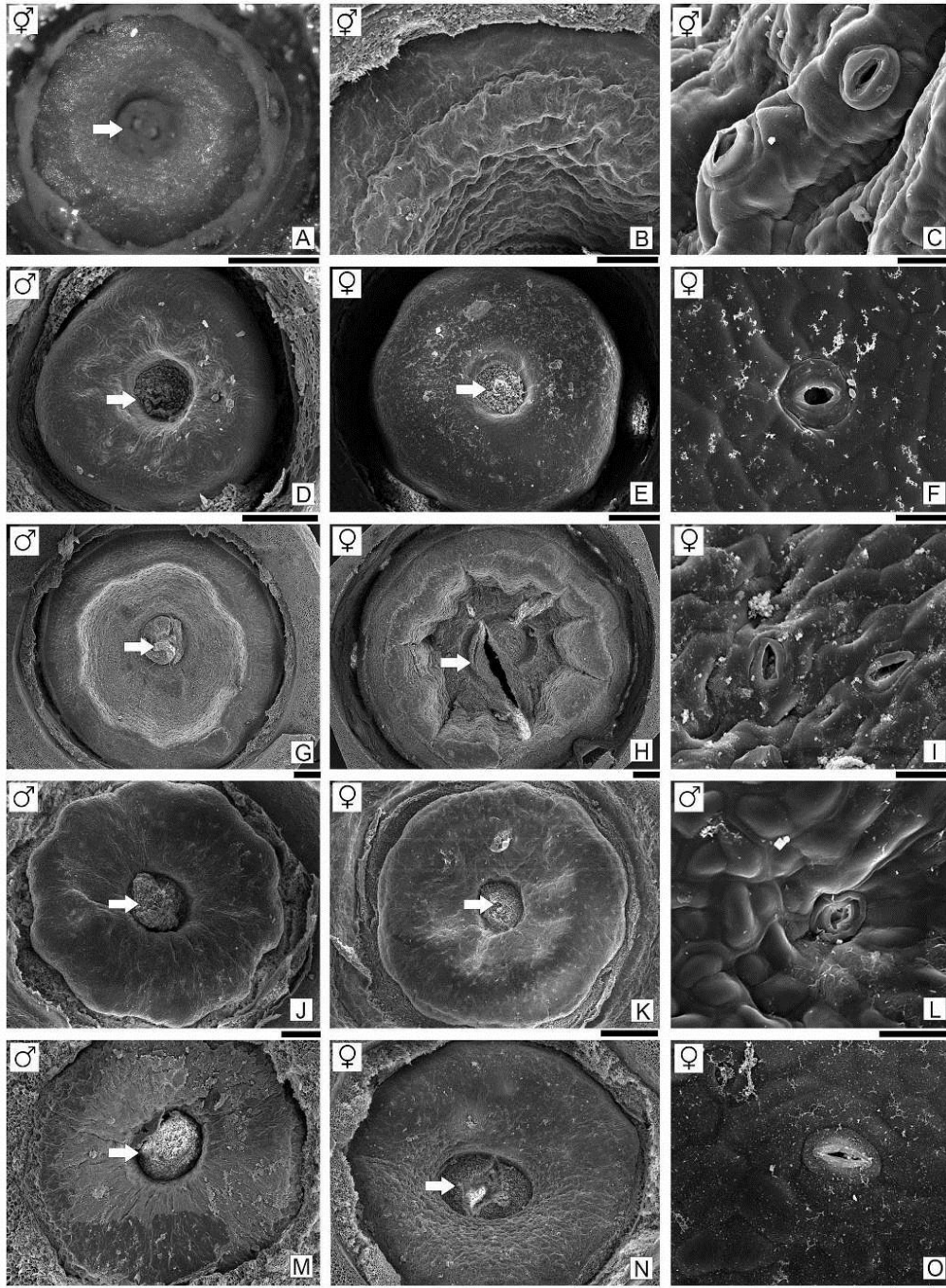


FIGURA 12. MORFOLOGÍA DE NECTARIOS (MEB). A-C. *T. formosa*. D-F. *C. concolor*. G-I. *G. americana*. J-L. *R. calycina*. M-O. *R. sp. nov.* A, D-E, G-H, J-K, M-N. Vista superficial del nectario, en todos los casos se removió el estilo (flecha). B. Detalle de porción del nectario. C, F, I, L, O. Detalle de nectarostomas. Escalas: A= 1 mm; B, D, E, J, M, N= 200 μ m; C, F, I, L, O= 20 μ m; G, H, K= 500 μ m.

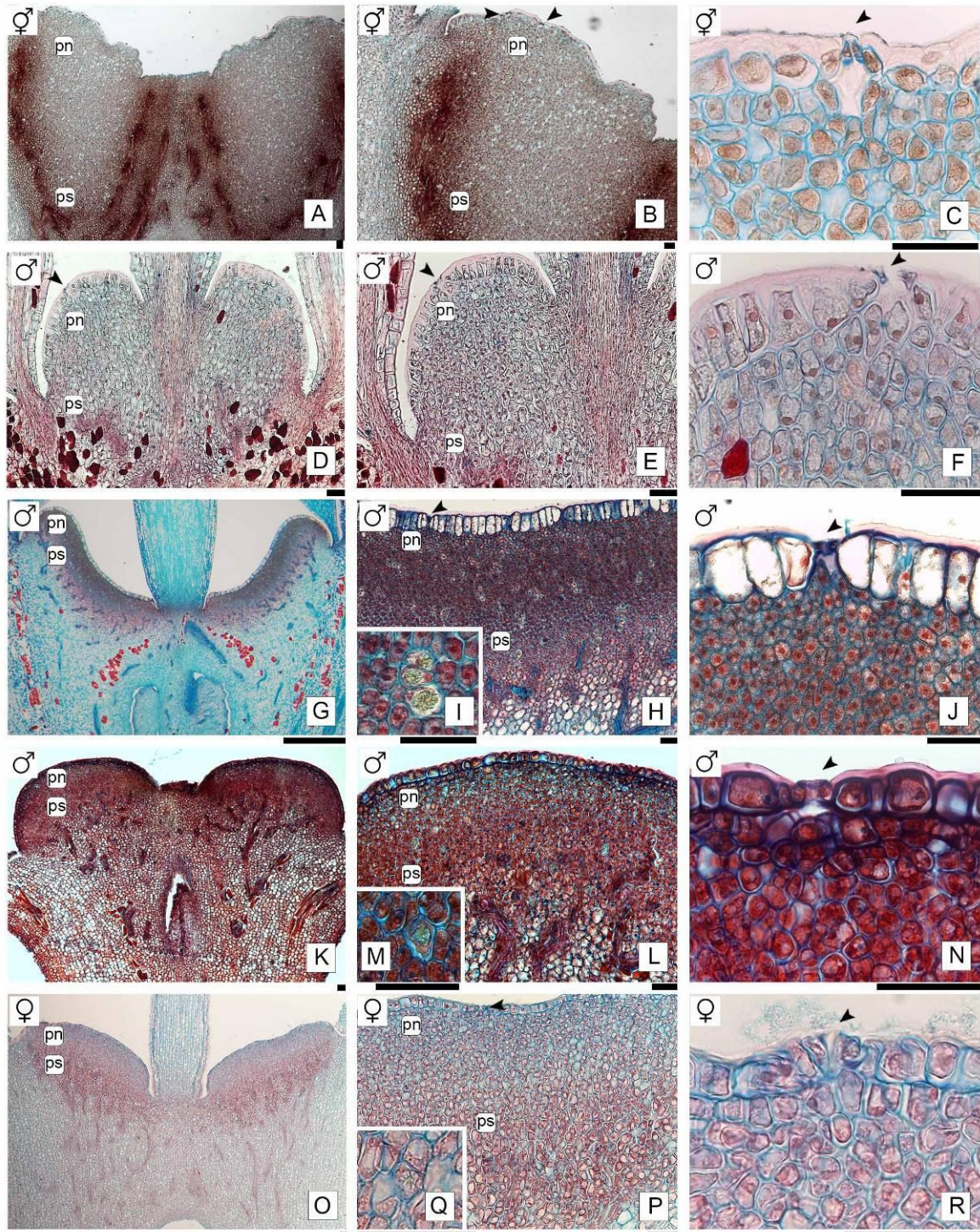


FIGURA 13. ANATOMÍA DE NECTARIOS. A-B. *T. formosa*. D-F. *C. concolor*. G-J. *G. americana*. K-N. *R. calycina*. O-R. *R. sp. nov.* A, D, G, K, O. Corte longitudinal del nectario. B, E, H, L, P. Detalle de una porción del nectario. I, M, Q. Detalle de células con drusa. C, F, J, N, R. Detalle de epidermis con nectarostomas. **Referencias:** pn= parénquima nectarífero; ps= parénquima subnectarífero. Puntas de flechas negras señalan nectarostomas. **Escalas:** G= 1 mm, A-F, H-R= 50 μ m.

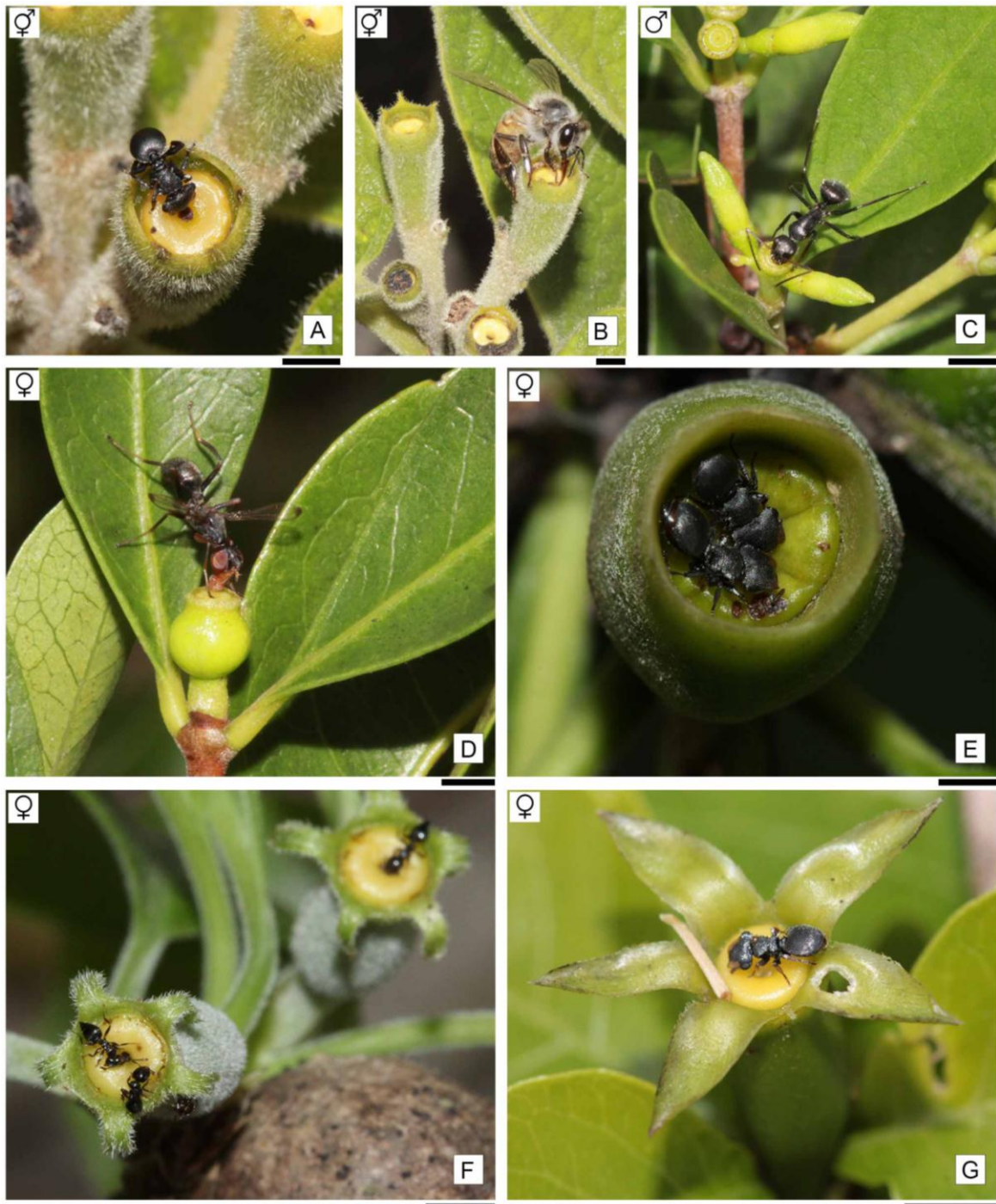


FIGURA 14. NECTARIOS CON SECRECIÓN POST-FLORAL. A-B. *T. formosa*. C-D. *C. concolor*. E. *G. americana*. F. *R. calycina*. G. *R. sp. nov.* Escalas: 2 mm.

Coléteres

Sólo están presentes en las flores de *T. formosa* y *C. concolor*. En ambas especies se encuentran ubicados en la cara interna del tubo del cáliz, en la primera se encuentran restringidos al área del tubo que coincide con el seno interlobular (Fig. 15 A), mientras que en la segunda especie se encuentran distribuidos aleatoriamente en toda la superficie del tubo (Fig. 15 C). Los coléteres difieren en el tipo y especie en que aparecen:

- *Coléteres estándar*: en *T. formosa*. Son cónicos con una constricción basal (Fig. 15 B). Su tamaño promedio es 141.87–296.12 μm de longitud. Presentan un eje central formado por células parenquimáticas alargadas en sentido longitudinal, rodeado por una epidermis compacta en empalizada de células de contorno rectangular. El coléter está cubierto por una cutícula gruesa. No presentan vascularización (Fig. 16 E).
- *Coléteres dendroides*: en *C. concolor*. Son cónicos sin constricción basal, aplanados sobre la cara interna del cáliz (Fig. 15 D). Miden 191.7–406.93 μm de longitud. Están formados por un eje de células parenquimáticas alargadas en sentido longitudinal, rodeado por células epidérmicas digitiformes con sus extremos libres. En el eje parenquimático se observaron drusas de oxalato de calcio. No presentan vascularización (Fig. 16 K).

Ontogenia: en ambos tipos, los coléteres comienzan su formación en los estados tempranos de diferenciación de los botones florales y siguen un patrón similar (Fig. 16 A-K). Se originan de la protodermis y del meristema fundamental subyacente. Las células de la protodermis que formarán el coléter tienen un mayor tamaño que las células circundantes y se dividen anticlinalmente. Las células del meristema fundamental subyacente se dividen en diferentes planos. Esto lleva a la formación de un pequeño domo recubierto por una delgada cutícula. Las sucesivas divisiones y el crecimiento de las células provocan que dicha estructura se alargue. De la protodermis se origina la epidermis, cuyas células se alargan radialmente. En *C. concolor*, la cutícula se rompe a medida que las células epidérmicas crecen y se separan entre sí. Las células del meristema fundamental subyacente forman el eje parenquimático con células que se alargan longitudinalmente.

Además, se ha observado en ambas especies, que los botones florales pequeños, en los que la corola ya ha emergido sobre el cáliz, los coléteres se encuentran completamente

recubiertos en la secreción producida por ellos (Fig. 17 A). Luego de que secretan su contenido, los coléteres se vuelven senescentes (Fig. 17 B-C).

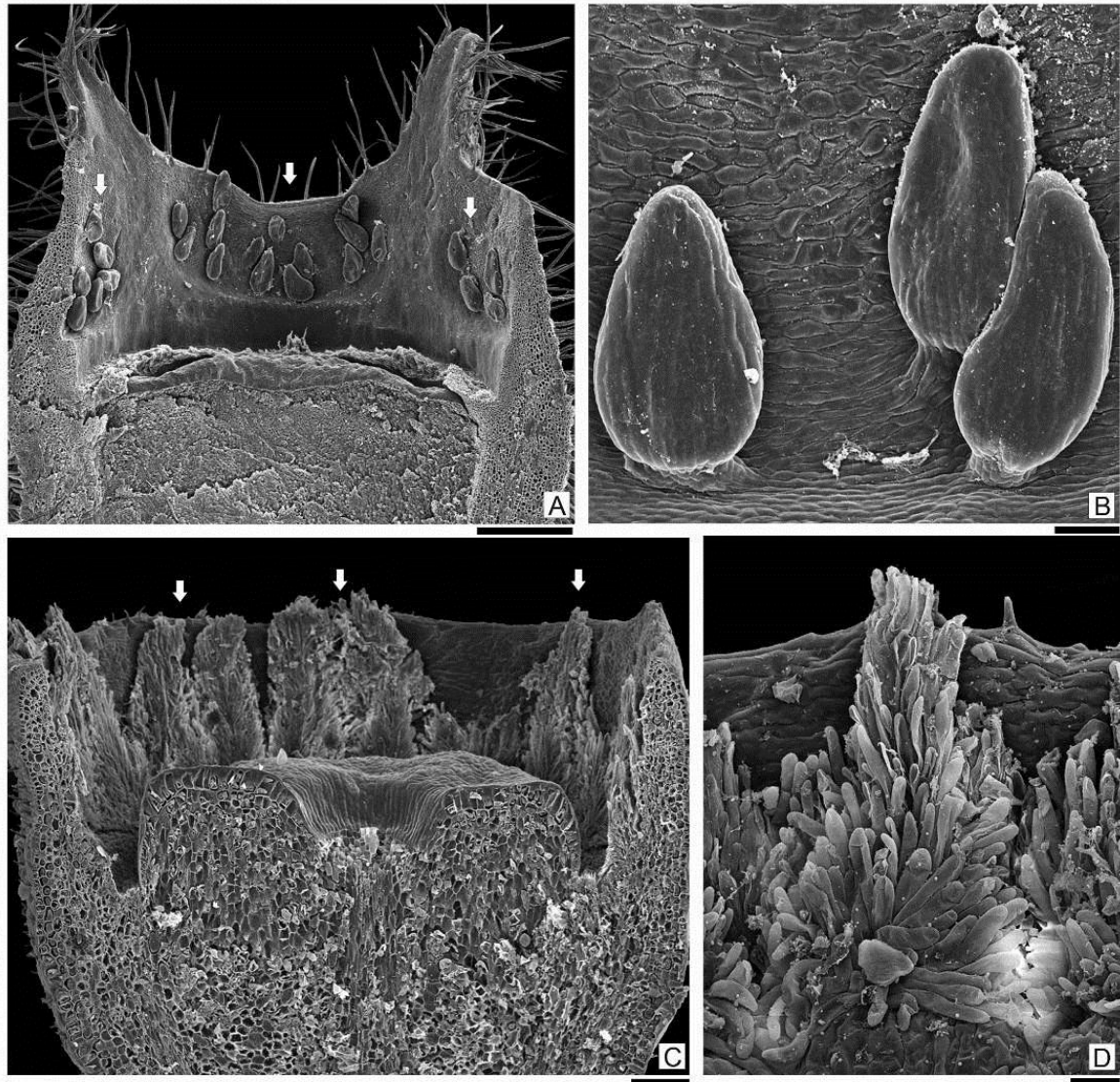


FIGURA 15. UBICACIÓN Y MORFOLOGÍA DE COLÉTERES (MEB). A-B. *T. formosa*. C-D. *C. concolor*. A, C. Distribución de los coléteres en el tubo del cáliz. B. Detalle de coléteres de tipo estándar. D. Detalle de coléter dendroide. Escalas: A= 500 μm ; B, D= 50 μm ; C= 100 μm .

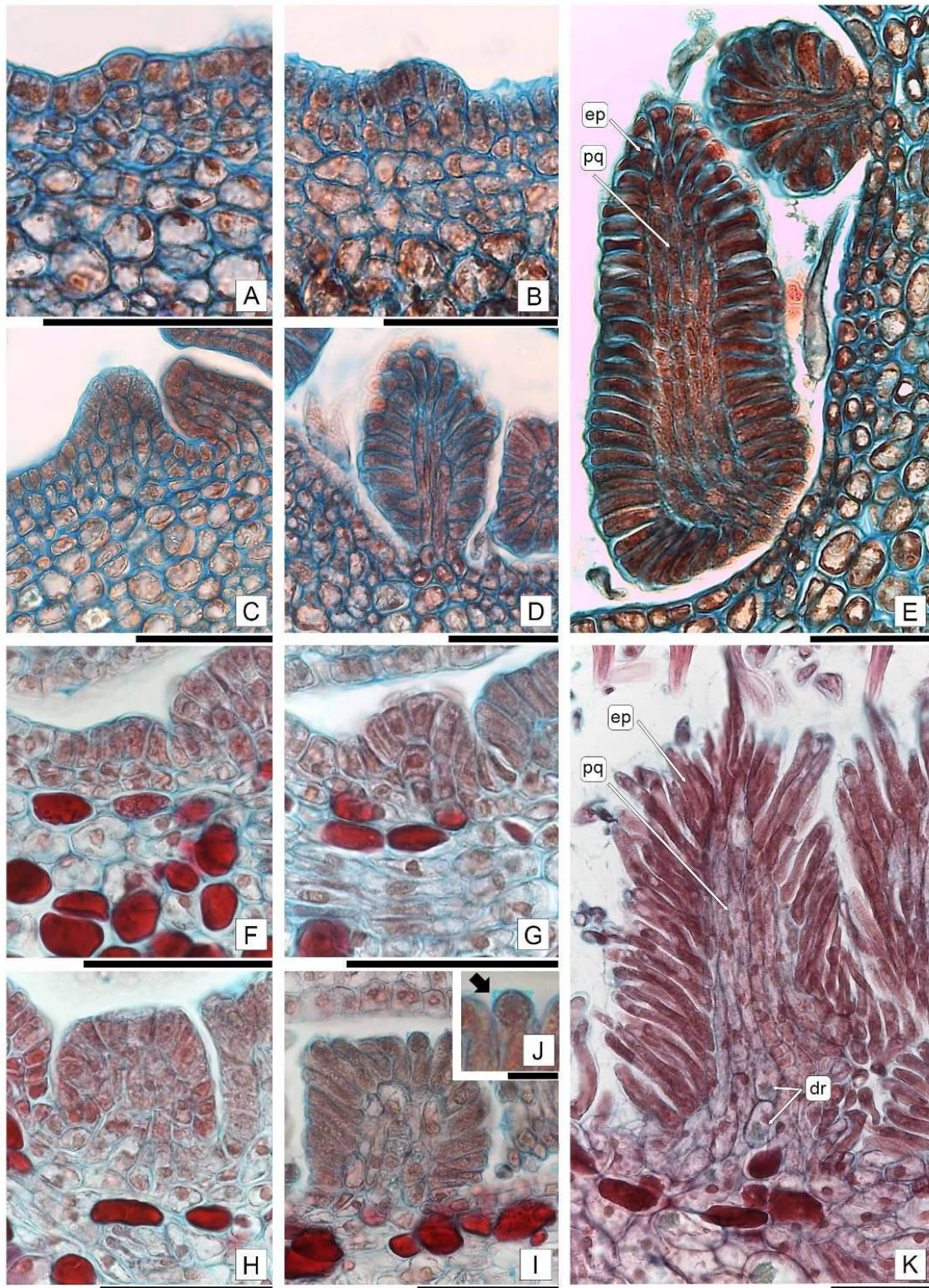


FIGURA 16. ONTOGENIA DE COLÉTERES. A-E. *T. formosa*. **A-D.** Diferenciación del coléter estándar. **E.** Coléter estándar maduro. **F-K.** *C. concolor*. **F-I.** Diferenciación del coléter dendroide. **J.** Detalle de célula epidérmica con la cutícula rota (flecha negra). **K.** Coléter dendroide maduro. **Referencias:** ep= epidermis; pq= parénquima. **Escalas:** A-I, K= 50 μ m; J= 10 μ m.

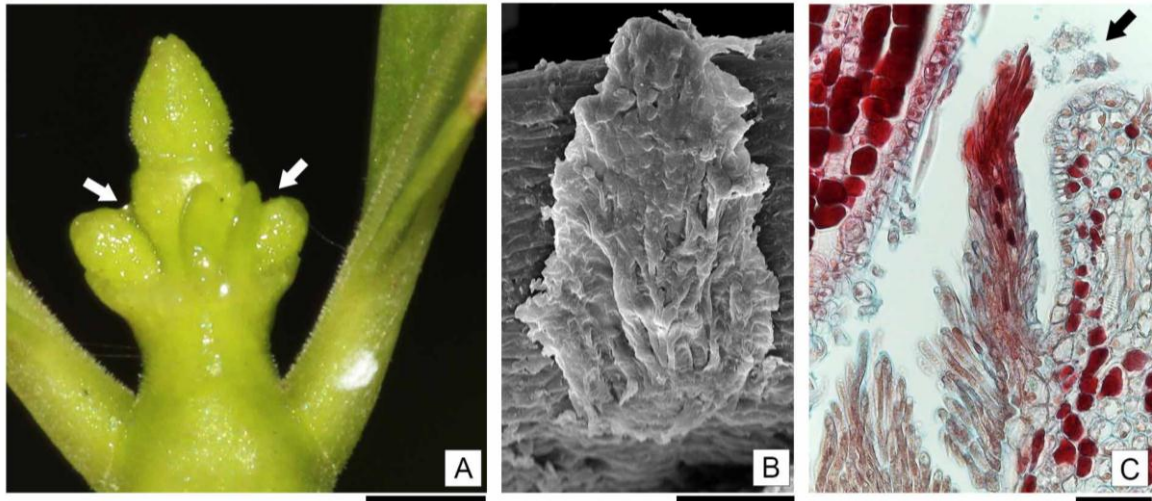


FIGURA 17. SECRECIÓN DEL COLÉTER DENDROIDE EN *C. CONCOLOR*. **A.** Ápice con botones florales bañados en la secreción de los coléteres (flechas blancas). **B.** Coléter cubierto de secreción. **C.** Coléter senescente con secreción (flecha negra). **Escala:** **A**= 1 mm; **B-C**= 50 μ m.

DISCUSIÓN

Las especies analizadas de *Gardenieae* comparten algunos caracteres florales como el número de piezas florales, la posición de las anteras y del nectario. Las diferencias se encontraron principalmente en la diferenciación dispar de los órganos sexuales en las especies con dioecia, la presencia de óvulos únicamente en las FP y en las FFP, la morfología del estigma y del ovario, y la presencia de coléteres en solo dos especies.

PERIANTO

En las flores de *Rubiaceae*, el cáliz generalmente está formado por un tubo y lóbulos apicales, dicha organización es la que presentaron las especies de *T. formosa*, *G. americana* y en ambas especies de *Randia*, con lóbulos más vistosos en estas dos últimas. Robbrecht (1988) ya mencionó que puede haber variaciones en la morfología del cáliz, como carecer de lóbulos y ser trunco, o presentar un tubo reducido y lóbulos bien desarrollados. De las especies analizadas, solo *C. concolor* presenta el cáliz trunco.

Anatómicamente el cáliz de todas las especies presentó epidermis uniestratificada, con estomas solo en la epidermis externa, parénquima homogéneo, drusas y haces vasculares colaterales. Sin embargo se encontraron algunas particularidades entre las especies: en *Randia sp. nov.* no hay taninos, en *T. formosa* y *R. calycina* las células con tanino se encuentran rodeando a los haces vasculares, mientras que en *C. concolor* y *G. americana* los taninos se encuentran en todo el parénquima. Además, se observó colénquima en ambas piezas del cáliz de *T. formosa* y en el tubo calicino de *G. americana*. En términos generales, el colénquima puede aparecer en tallos, hojas, partes florales, frutos y raíces (Fahn, 1985). La presencia de dicho tejido en el cáliz ayuda a la firmeza de la estructura de este órgano (Endress, 1994), lo que estaría asociado a flores de gran tamaño como las de *T. formosa* y *G. americana*.

En cuanto a la corola, en todas las especies es hipocrateriforme, generalmente pentámera y de simetría actinomorfa, con el tubo de color verde y los lóbulos blancos, salvo en *T. formosa* que son de color amarillento. Dichas características son las frecuentemente encontradas en *Rubiaceae* (Robbrecht, 1988). Anatómicamente la corola tiene epidermis uniestratificada, con estomas solo en la epidermis externa de los lóbulos y ausentes en el tubo, parénquima homogéneo, drusas y haces vasculares colaterales. En la base del tubo de la corola de todas las especies las células de la epidermis interna presentan paredes engrosadas, en *T. formosa* y *G. americana* estos engrosamientos ocurren también

en la epidermis externa, lo que podría deberse a la necesidad de brindar mayor sostén para el mayor tamaño de corola en estas especies. El tipo de haces vasculares y la distribución de las células con tanino es similar a lo observado en las piezas del cáliz de cada especie.

De los resultados obtenidos se desprende que ciertas características anatómicas como la presencia de drusas, taninos, la epidermis con paredes engrosadas en la base del tubo coralino y los haces vasculares colaterales son comunes a todas las especies analizadas de *Gardenieae*. Sin embargo, la presencia de colénquima en el perianto está restringida a las especies con mayor tamaño de flor *G. americana* y *T. formosa*. Por lo tanto, se demuestra que mientras algunos caracteres en conjunto sirven para ayudar a caracterizar a la tribu, otros son exclusivos de algunas de las especies.

VERTICILLOS SEXUALES

Las discusión de estos verticilos se ampliará en los capítulos correspondientes (capítulos II y III).

Androceo: las especies presentaron un verticilo de 4-5 estambres alternos a los lóbulos de la corola, con anteras separadas del tubo de la corola por un corto filamento, siendo este el patrón común de las Rubiáceas (Robbrecht, 1988). En las FP de *T. formosa* y en las FFE de las especies dioicas, las anteras son tetrasporangiadas y presentan dehiscencia longitudinal, de tipo introsa como en el resto de las Rubiáceas (Hallé, 1967). Las anteras de las FFP son indehiscentes y no presentan polen.

Gineceo: las especies analizadas tienen ovario ínfero, poco desarrollado en las FFE de las especies dioicas. La posición inferior del ovario es una de las características más importantes que define a la familia Rubiaceae (Robbrecht, 1988). El estilo es único y su longitud es similar a la del tubo de la corola en *T. formosa* y en las especies de *Randia*, y de menor tamaño que el tubo en las especies de *C. concolor* y *G. americana*. Hubo variaciones en la forma del estigma entre las especies, es bífido en *C. concolor* y bilobado en el resto de las especies. Además, en *T. formosa* y en las FFE de *G. americana* y las especies de *Randia* la presencia de surcos en la superficie participan en la presentación secundaria del polen, algo que es frecuente en muchas Rubiáceas (Hallé, 1967; Robbrecht, 1988, ver capítulo IV).

ESTRUCTURAS GLANDULARES

Nectarios: a lo largo del tiempo, numerosas clasificaciones han sido propuestas para caracterizar a los nectarios, en base a su función y ubicación en la planta:

- **Florales**: en órganos florales, y **extraflorales**: en órganos vegetativos (Caspary, 1848).
- **Nupciales**, a los que participan en la polinización, y **extranupciales**, a los que no están involucrados con la polinización (Delpino, 1868-1875).
- **Reproductivos**, ubicados en flores y frutos y en otras estructuras reproductivas incluyendo inflorescencias, brácteas, pedicelos, y **extrarreproductivos** cuando están en órganos estrictamente vegetativos (Schmid, 1988).
- **Persistentes**, cuando están asociados con las partes florales que no caen luego de la polinización y durante la diferenciación del fruto, y **caducos**, cuando están asociados con las piezas florales que caen luego de la fecundación (Smets, 1968, 1988; Smets & Cresens, 1988). Los nectarios persistentes pueden permanecer intactos en la flor sin producir néctar o pueden tener secreción post-floral luego de la anthesis o durante la diferenciación del fruto (Schmid, 1988). Este tipo de nectarios con secreción post-floral ha sido encontrado en varias familias de Angiospermas entre las que se encuentran Cactaceae, Euphorbiaceae, Orchidaceae, Rubiaceae y Solanaceae (Bernardello, 2007).

Las flores de las especies analizadas presentan un NF ubicado sobre el ovario y rodeando la base del estilo, dicha ubicación es la comúnmente encontrada en la mayoría de las Rubiaceae (Robbrecht, 1988). Teniendo en cuenta la terminología de Bouchardat (1847) para Angiospermas, estos nectarios corresponden a los denominados nectarios **epíginos**, término que ha sido utilizado actualmente por Manns & Bremer (2010) para designar al NF de la tribu Naucleae. Además, se ha visto que en la mayoría de la literatura, tanto en trabajos taxonómicos como morfológicos, en la familia Rubiaceae se emplea generalmente el término disco para hacer referencia al nectario floral.

Según Brown (1938) la uniformidad del nectario floral de las Rubiáceas como un disco por encima del ovario es realmente llamativa. Entre las especies analizadas, los nectarios de *G. americana*, y de las FFP de *Randia* presentan una depresión en dirección al estilo, más marcada en *G. americana*, mientras que en el resto de las especies los NF tienen una superficie marcadamente convexa. Por otro lado, los nectarios de ambos tipos de flores en *G. americana* y *R. calycina* son suavemente lobulados. En Rubiaceae,

nectarios florales con la superficie lobulada se han mencionado además en las flores estaminadas (ausentes en las flores pistiladas) de especies de la tribu Urophyllaeae, y son el resultado de la impresión de las anteras durante la diferenciación de los botones florales (Bremekamp, 1940; en Robbrecht, 1988).

En base a su anatomía y forma de secreción del néctar, los nectarios se clasifican como:

- **Estructurales**, formados por tejidos especializados que se diferencian estructuralmente de los tejidos vecinos, y **no estructurales**, no presentan una estructura diferente a la de los tejidos vecinos (Zimmermann, 1932).
- **Mesenquimáticos**, que consiste en tejidos glandulares y de almacenamiento que normalmente secretan néctar en espacios intersticiales o en el apoplasto de la pared celular y luego lo exudan a través de nectarostomas, **epiteliales**, consiste en una epidermis glandular permeable, a menudo con un tejido glandular subyacente, y **tricomáticos**, consiste en la secreción de tricomas glandulares a menudo agregados en cojines (Vogel, 1977).

Nepi (2007) propone tres términos para describir la anatomía general del nectario estructural: *epidermis nectarífera*, *parénquima nectarífero* (células pequeñas de citoplasma denso ubicadas debajo de la epidermis) y *parénquima sub-nectarífero* (células más grandes y dispuestas más laxamente que las del parénquima nectarífero). Además, según este autor, los haces vasculares pueden encontrarse en el parénquima nectarífero o en el parénquima sub-nectarífero. En las especies analizadas de *Gardenieae* los nectarios presentan estos tres tejidos, existiendo haces vasculares en el parénquima subnectarífero. Entre las especies aquí analizadas la principal diferencia anatómica observada se da en la proporción que ocupan los tejidos nectaríferos y subnectaríferos. Mientras que en los nectarios de *T. formosa* y de *C. concolor* el tejido más desarrollado es el nectarífero, en *G. americana* y en ambas especies de *Randia* ambos tejidos tienen una proporción similar.

El néctar puede salir al exterior de diversas maneras: transcuticularmente a través de células epidérmicas o tricomas; a través de estomas modificados (nectarostomas), de ranuras en los nectarios septales, o de cavidades lisígenas (Fahn, 1979). En todas las especies aquí analizadas, el néctar es secretado a través de nectarostomas. La exudación del néctar a través de nectarostomas parece ser el mecanismo más común para liberar dicha sustancia en las Angiospermas (Bernardello, 2007 y bibliografía allí citada) y hace posible

liberar mayor volúmenes de néctar en menor tiempo en comparación con los nectarios que no presentan nectarostomas (Paiva, 2017).

Pocos estudios detallan la anatomía de los nectarios florales en especies de Rubiaceae. Entre ellos están los trabajos realizados por Galetto (1998) en *Hamelia patens* (tribu Hamelieae), *Heterophyllaea pustulata* y *Manettia cordifolia* (tribu Spermaceae), y por Florentín *et al.* (2016) en *Oldenlandia salzmannii* (tribu Spermaceae). En dichos casos, como sucede en las especies analizadas de *Gardenieae*, los nectarios también son epíginos. En *O. salzmannii* los nectarios presentan epidermis con papilas y cutícula estriada, nectarostomas y parénquima nectarífero con rafidios, no se menciona la presencia de haces vasculares. En las especies estudiadas por Galetto (1998) la epidermis presenta nectarostomas, parénquima nectarífero y parénquima subnectarífero, se menciona la presencia de rafidios y de haces formados por floema y xilema, presentando diferencias en el tamaño de las células epidérmicas y en el número de nectarostomas. Este autor clasifica los nectarios de *H. patens*, *H. pustulata* y *M. cordifolia* como persistentes teniendo en cuenta la terminología de Smets (1968, 1988).

Durante observaciones de campo se encontró que en las especies analizadas de *Gardenieae*, después de la caída de la corola, los nectarios siguen siendo visitados por hormigas.

Hay pocos estudios en Rubiaceae en los que se describe la presencia de nectarios florales que perduran luego de la caída de la corola. Entre ellos, Koptur (1992) menciona que en *Hamelia patens* el nectario floral tiene función post-floral, persiste en el fruto y su secreción es buscada por hormigas. Según Galetto (1998), éste sería el caso de un nectario floral que, además de su intervención en la polinización durante la antesis, actúa como nectario extrafloral al menos durante las primeras etapas de diferenciación del fruto. Otro caso se da en *Amaioua guianensis* (tribu *Gardenieae*), en esta especie el NF persiste durante la diferenciación de los frutos, describiéndose como post-florales, los que son visitados por hormigas durante la diferenciación de los frutos, con posible función de protección contra los predadores (Amorim & Oliveira, 2006). En *Alibertia verrucosa* (ahora *Cordia macrophylla* (K. Schum.) Kunze) se describe como nectario extrafloral al NF que perdura luego de la abscisión de la corola (Falcão *et al.*, 2014). En esta especie la producción de néctar es mayor en los frutos de tamaño intermedio, lo que los autores interpretan como una forma probable de aumentar el número de hormigas visitantes, mientras que, la producción de néctar disminuye en los frutos maduros lo que podría permitir que al disminuir la visita de hormigas los dispersores tengan acceso a los frutos.

Por otro lado, Del-Claro *et al.* (2013) describen en *Palicourea rigida* (tribu Psychotrieae) nectarios pericarpiales que persisten en el fruto en diferenciación, dichos nectarios tienen secreción post-floral que es consumida por hormigas. En este caso, las hormigas no protegen al fruto sino que protegen las partes vegetativas de la planta. Por último, en *T. formosa* Sanz-Veiga *et al.* (2017) estudió los nectarios florales luego de la abscisión de la corola a los que denominó nectarios post-florales pericarpiales, los que siguen secretando cantidades copiosas de néctar durante la diferenciación del fruto y que son visitados por distintas especies de hormigas. La función que cumplirían estos nectarios en dichas etapas no está claramente establecida. Sin embargo, estos autores llegan a la conclusión de que las hormigas atraídas por la secreción de estos nectarios no proporcionan protección a los frutos contra los depredadores de semillas.

En las especies analizadas en el presente trabajo se sugiere realizar futuros estudios que involucren observaciones detalladas del período de secreción del néctar y de los visitantes florales durante la anthesis floral, luego de la abscisión de la corola y durante la diferenciación de los frutos para establecer la interacción entre los nectarios con los visitantes florales y con las hormigas. Los resultados desprendidos del presente estudio abren las puertas a futuros estudios de interacciones plantas/insectos.

Teniendo en cuenta lo antes mencionado, los nectarios de las especies analizadas de *Gardenieae*, se pueden clasificar como: reproductivos, estructurales y mesenquimáticos, que en la etapa floral son nectarios florales, con función nupcial, mientras que luego de la abscisión de la corola y durante la diferenciación del fruto son persistentes (con secreción post-floral) y con función extranupcial.

Coléteres: se encontraron únicamente en las flores de *T. formosa* y de *C. concolor*. Teniendo en cuenta su morfo-anatomía y la clasificación de coléteres propuesta por Lersten para la familia Rubiaceae (1974a, 1974b), en la primera especie son del tipo estándar y en la segunda son del tipo dendroide. Teniendo en cuenta su ontogenia, ambos tipos de coléteres se desarrollan a partir de la protodermis y del meristema subyacente, por lo tanto, son emergencias. Esto coincide con lo descrito para otras Rubiáceas (Hallé 1967; Dave *et al.*, 1988; Thomas, 1991; Coelho *et al.*, 2013; Muravnik *et al.*, 2014, Judkevich *et al.*, 2017).

Los coléteres en Rubiaceae tienen una variada ubicación, pueden encontrarse en cáliz (en el seno interlobular, margen de los lóbulos y base de la cara interna de los lóbulos), bractéolas (sobre lacinias), estípulas (en margen y cara interna) e incluso encontrarse en las

yemas subterráneas sobre lacinias reducidas (Judkevich *et al.*, 2017). En las especies analizadas los coléteres se encontraron en la cara interna del tubo del cáliz: en *C. concolor* se distribuyen de forma continua en toda la superficie del tubo, mientras que en *T. formosa* se restringen a la región interlobular del tubo.

Machado *et al.* (2008) menciona la presencia de coléteres agrupados en clusters en la superficie interna del cáliz de *Tocoyena brasiliensis* y *T. formosa*, sin realizar descripciones anatómicas ni definir el tipo de coléter encontrado. Por otro lado, Tresmondi *et al.*, (2015) describió los coléteres de las estípulas de varias Rubiaceae, entre ellas los de *T. formosa* y *C. concolor*, encontrando en cada especie el mismo tipo de coléter que el descrito en el presente estudio, estándar y dendroide respectivamente. Lersten (1975) también menciona coléter dendroide en estípulas de *C. concolor*.

Esto coincide con lo mencionado por Robbrecht (1998) para Rubiaceae y por Hallé (1967) para *Gardenieae*, de que el tipo de coléteres encontrados en el cáliz generalmente está asociado al tipo de coléteres presentes en las estípulas. Esta coincidencia de tipos de coléteres en estípulas y cáliz ha sido mencionada también en *Gardenia* (Dave *et al.*, 1988; Low & Wong 2007), *Rosenbergiodendron* (Gustafsson, 1998) y en numerosas especies de la tribu Spermaceae (Judkevich *et al.*, 2017). Sin embargo, es importante mencionar que aunque existan coléteres en las estípulas, no siempre van a encontrarse también en las flores.

Si bien dichas estructuras están presentes en las estípulas tanto de *G. americana* (obs. pers.) como de las especies de *Randia* (Judkevich *et al.*, 2015), están ausentes en el cáliz. La ausencia de coléteres en el cáliz de *Randia* ha sido previamente mencionada por Gustafsson (1998) quien usó dicho carácter morfológico, entre otros (flores unisexuales y ramas con espinas), para distinguirlo de *Rosenbergiodendron* (ramas sin espinas y flores hermafroditas), que hasta el momento se consideraba sinónimo de *Randia*.

Mientras los coléteres de tipo estándar son los más comunes en las Angiospermas (Lersten, 1974a, b; Thomas, 1991), los coléteres dendroides se han descrito únicamente en Rubiaceae, principalmente en las estípulas de especies con nódulos bacterianos foliares (Lersten, 1974a, b; 1975). Entre ellas la mayoría de las especies de *Psychotria* (tribu Psychotrieae) al igual que algunas especies del género *Pavetta* (tribu Pavetteae) (Lersten, 1974). En *Psychotria bacteriophila* los primordios foliares bañados con el mucílago secretado por los coléteres contienen bacterias, desarrollan estomas dispersos en la epidermis abaxial, a través de los cuales el mucílago y las bacterias entran en las cámaras subestomáticas, iniciando así los nódulos bacterianos (Lersten & Horner, 1967). Sin

embargo, existen coléteres dendroides en especies no asociadas a nódulos bacterianos foliares como las del género *Tricalysia* (tribu Coffeae *s.l.*), *Calycophyllum spruceanum* (tribu Cinchoneae), *Vangueria edulis* (tribu Vanguerieae) y *Cordia concolor* (Lersten, 1975). La hipótesis más adecuada a la presencia de coléteres dendroides en especies con y sin nódulos foliares según Lersten (1975), es que las bacterias ingresaron en las yemas de ciertas especies y establecieron nódulos en las hojas lo que influyó en un cambio evolutivo hacia la formación de coléteres dendroides. Dicho autor sugiere que las especies que actualmente tienen este tipo de coléteres, pero sin nódulos foliares, los tuvieron en algún momento y los perdieron. Además, se considera que el coléter de tipo estándar es el más ancestral (Lersten, 1974a, b) y que el resto de los tipos encontrados derivan de dicho tipo: intermedio, dendroide, cepillo, estándar reducido, plumoso, alado, filiforme (Lersten, 1974a, b; Robbrecht, 1988) y bifurcado (Coelho *et al.*, 2013).

En los coléteres estándar de *T. formosa*, la cutícula es bien notoria, sin embargo en los coléteres dendroides de *C. concolor* es difícil reconocer la cutícula ya que ésta se rompe durante la diferenciación del coléter. El estudio de la ultraestructura en los coléteres dendroides de los ápices vegetativos y reproductivos de *A. sessilis* reveló que éstos no presentan cutícula (Machado *et al.*, 2012). Estudios de ultraestructura en *C. concolor* serían necesarios para confirmar la ausencia de cutícula en este tipo de coléteres. Por otro lado, mientras que coléteres de *P. bacteriophila* no presentan cutícula (Horner & Lersten, 1968), según Herman *et al.* (1986) en las especies de *Psychotria* estudiadas por estos autores (*P. cooperi*, *P. barbertonensis*, *P. gracilijolia*, *P. capensis* subsp. *komghensis*, *P. schumanniana* y *P. gardeniifolia* var. *subtomentosa*) sí presentan cutícula.

En relación a la presencia de cristales en los coléteres, en *C. concolor* se observaron drusas de oxalato de calcio en el eje parenquimático, el mismo tipo de cristal encontrado en los coléteres de la especie *Alibertia sessilis*, ahora incluida en el género *Cordia* (Machado *et al.*, 2012). La presencia de cristales en coléteres ha sido mencionada en varias especies de Rubiaceae pertenecientes a diferentes tribus (Psychotrieae, Lersten, 1974a, b; Miguel *et al.*, 2009; Vitarelli & Santos, 2009; Gardenieae, Dave *et al.*, 1988; Tresmondi *et al.*, 2015; Knoxieae, Muravnik *et al.* 2014; Spermaceae, Tresmondi *et al.*, 2015; Judkevich *et al.*, 2017). Se ha observado que en las especies de Angiospermas con cristales en los coléteres presentan el mismo tipo de células con cristales en otros órganos de la planta (Gonzalez & Tarragó, 2009; Machado *et al.*, 2012; Judkevich *et al.*, 2017).

El rol funcional de la secreción de los coléteres aún no está completamente establecido. La función biológica más generalizada es brindar protección a los tejidos

meristemáticos (Solereider, 1908; Robbrecht, 1988; Dave *et al.*, 1988; Thomas & Dave, 1989). Recientemente, Meyer *et al.* (2013) estudió el rol funcional de los coléteres en plantas de café comparando la diferenciación de flores de *Coffea arabica* cv. *Catuaí* vs. su mutante Decaffito®. Este autor demostró que la secreción de los coléteres que cubren las piezas florales funciona como adhesivo manteniendo unidos a los pétalos a la vez que evita su deshidratación. Por otra parte, Miguel *et al.* (2006) encontró propiedades anti-fúngicas en la secreción de *Bathysa nicholsonii*. En *T. formosa* y *C. concolor* se ha visto que los botones más pequeños están cubiertos por la secreción producida por los coléteres del cáliz y probablemente por los de las estípulas. En estas especies la secreción parecería tener la función de protección de las piezas florales en formación.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos y las observaciones realizadas, la presencia, distribución y tipo de coléteres en las especies de *Gardenieae s.l.* tienen utilidad taxonómica sobre todo a nivel de género.

BIBLIOGRAFÍA

- Amorim FW & PE Oliveira. 2006.** Estrutura sexual e ecologia reprodutiva de *Amaioua guianensis* Aubl. (Rubiaceae), uma espécie dióica de formações florestais de cerrado. *Rev. Bras. Bot.* 29(3): 353-362.
- Appezato-da-Glória B & MEM Estelita. 2000.** Development, structure and distribuição of colleters in *Mandevilla illustris* e *M. velutina* (Apocynaceae). *Rev. Bras. Bot.* 23: 113-120.
- Barreiro DP & SR Machado. 2007.** Coléteres dendróides em *Alibertia sessilis* (Vell.) K. Schum., uma espécie não-nodulada de Rubiaceae. *Rev. Bras. Bot.* 30(3): 387–399.
- Bernardello G. 2007.** A systematic survey of floral nectaries. In: Nicolson SW, Nepi M, Pacini E, eds. Nectaries and nectar. Dordrecht: Springer, 19–128.
- Bouchardat A. 1847.** Tratado completo de historia natural. Eds. Graells MP & M Colmeiro. Madrid, 715 p.
- Bremekamp CEB 1940.** On *Urophyllum* Wall. (Rubiaceae) and its nearest allies. *Recueil des Travaux Botaniques Néerlandais* 37: 171–197.
- Brown WH. 1938.** The Bearing of Nectaries on the Phylogeny of Flowering Plants. *Proc. Amer. Philos. Soc.* 79(4): 549–594.
- Caspary R. 1848.** De nectariis. Bonn: Adolphum Marcum.
- Coelho VPM, JPV Leite, LG Fietto, MC Ventrella. 2013.** Colleters in *Bathysa cuspidata* (Rubiaceae): development, ultrastructure and chemical composition of the secretion. *Flora* 208: 579–590.
- Dave Y, PM Kuriachen & V Thomas. 1988.** Development, structure and senescence of colleters in *Gardenia lucida* Roxb. (Rubiaceae). *Acta Soc. Bot Pol.* 57: 3–7.
- De Toni KLG & JEA Mariath. 2011.** Developmental Anatomy and Morphology of the Flowers and Fruits of Species from *Galium* and *Relbunium* (Rubiaceae). *Ann. Mo. Bot. Gard.* 98(2): 206–225.
- Del-Claro K, Guillermo-Ferreira R, Almeida EM, Zardini H & HM Torezan-Silingardi. 2013.** Ants visiting the post-floral secretions of pericarpial nectaries in *Palicourea rigida* (Rubiaceae) provide protection against leaf herbivores but not against seed parasites. *Sociobiology* 60(3): 217–221.
- Delpino F. 1868-1874.** Ulteriori osservazioni e considerazioni sulla dicogamia nel regno vegetale. *Atti Soc. Ital. Sci. Nat.* 11: 265-332 (1868); 12: 21-141, 179-233 (1869); 13: 167-205 (1870); 16: 151-349 (1873); 17:266-407 (1874).

- Endress, PK. 1994.** Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press. ISBN 0521 420881, 420 p.
- Fahn A. 1979.** Secretory tissues in plants. London: Academic Press.
- Falcão JCF, Dáttilo W & TJ Izzo. 2014.** Temporal variation in extrafloral nectar secretion in different ontogenic stages of the fruits of *Alibertia verrucosa* S. Moore (Rubiaceae) in a Neotropical savanna. *J. Plant Interact.* 9(1): 137–142.
- Florentin MN, Cabaña Fader A & AM Gonzalez. 2016.** Morpho-anatomical and morphometric studies of the floral structures of the distylous *Oldenlandia salzmannii* (Rubiaceae). *Acta Bot. Bras.* 30: 585–601.
- Galetto L. 1998.** Estructura floral y composición química del néctar en tres especies de Rubiaceae. *Kurtziana* 26: 83–98.
- Gonzalez AM & DJ Tarragó. 2009.** Anatomical structure and secretion compounds of colleters in nine *Ilex* species (Aquifoliaceae) from southern South America. *Bot. J. Linn. Soc.* 160:197–210.
- Gustafsson CGR. 1998.** The neotropical *Rosenbergiodendron* (Rubiaceae, Gardenieae). *Brittonia*, 50(4): 452–466.
- Hallé F. 1967.** Étude biologique et morphologique de la tribu des Gardéniées (Rubiaceae). *Mém. O.R.S.T.O.M.* 22: 146 p.
- Herman PPJ, Robbertse PJ & Grobbelaar N. 1986.** The morphology of the vegetative shoot apex and stem of some southern African *Pavetta* species. *S. Afr. J. Bot.* 1986, 52: 212–220.
- Horner HT & NR Lersten. 1968.** Development, structure and function of secretory trichomes in *Psychotria bacteriophila* (Rubiaceae). *Am. J. Bot.* 55: 1089–1099.
- Judkevich MD, RM Salas & AM Gonzalez. 2017.** Colleters in American Spermaceae genera (Rubiaceae), morphoanatomical and evolutionary aspects. *Int. J. Plant. Sci.* 178(5): 378–397.
- Klein DE, Gomes VM, Da Silva-Neto SJ & Da Cunha M. 2004.** The Structure of Colleters in several species of *Simira* (Rubiaceae). *Ann. Bot.* 94: 733–740
- Koptur S. 1992.** Plants with extrafloral nectaries and ants in everglades habitats. *Florida Entomol.* 75: 38–50.
- Lersten NR. 1974a.** Colleter morphology in *Pavetta*, *Neorosea* and *Tricalysia* (Rubiaceae) and its relationship to the bacterial leaf nodule symbiosis. *Bot. J. Linn. Soc.* 69: 125–136.

- Lersten NR. 1974b.** Morphology and distribution of colleters and crystals in relation to the taxonomy and bacterial leaf nodule symbiosis of *Psychotria* (Rubiaceae). *Am. J. Bot.* 61: 125–136.
- Lerten NR. 1975.** Colleter types in Rubiaceae, especially in relation to the bacterial leaf nodule symbiosis. *Bot. J. Linn. Soc.* 71: 311–319.
- Lersten NR & HT Horner. 1967.** Development and structure of bacterial leaf nodules in *Psychotria bacteriophila* Val. (Rubiaceae). *J. Bacterio.* 94: 2027–2036.
- Low YW & KM Wong. 2007.** Two new species of *Gardenia* (Rubiaceae) from Borneo and notes on *Gardenia pterocalyx*. *Edinb. J. Bot.* 64: 25–36.
- Machado SR, Barreiro DP, Rochac JF & TM Rodrigues. 2012.** Dendroid colleters on vegetative and reproductive apices in *Alibertia sessilis* (Rubiaceae) differ in ultrastructure and secretion. *Flora* 207: 868–877.
- Machado SR, LPC Morellato, MG Sajo & OS Oliveira. 2008.** Morphological patterns of extrafloral nectaries in woody plant species of the Brazilian cerrado. *Plant Biol.* 10: 660–673.
- Manns U & B Bremer. 2010.** Towards a better understanding of intertribal relationships and stable tribal delimitations within Cinchonoideae s.s. (Rubiaceae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 56: 21–39.
- Martínez-Cabrera D, Terrazas T & H Ochoterena. 2014.** Morfología y anatomía floral de la tribu Hamelieae (Rubiaceae). *Brittonia* 66: 89–106.
- Mendoza H, Ramírez B & LC Jiménez. 2004.** Rubiaceae de Colombia. Guía ilustrada de géneros. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá, Colombia. 351p.
- Mayer JLS, Carmello-Guerreiro SM & P Mazzafera. 2013.** A functional role for the colleters of coffee flowers. *Ann. Bot. Plants* 5: 1–13.
- Miguel EC, De Oliveira M A, Klein DE & Da Cunha M. 2003.** Anatomy and ultrastructure of colleters from three species of *Bathysa* C. Presl. (Rubiaceae) from Reserva Biológica de Tinguá, Rio de Janeiro. *Acta Microscopica* 12, Supplement B, XIX Congress of the Brazilian Society for Microscopy and Microanalysis.
- Miguel EC, Gomes VM, Oliveira MA & Da Cunha M. 2006.** Colleters in *Bathysa nicholsonii* K. Schum. (Rubiaceae): Ultrastructure, Secretion Protein Composition, and Antifungal Activity. *Plant Biol.* 8: 715–722.

- Miguel EC, Klein DE, Oliveira MA & Da Cunha M. 2010.** Ultrastructure of secretory and senescence phase in colleterers of *Bathysa gymnocarpa* and *B. stipulata* (Rubiaceae). *Ver. Bras. Bot.* 33: 425–436
- Miguel EC, Moraes DG & MD Cunha. 2009.** Stipular colleterers in *Psychotria nuda* (Cham. & Schldl.) Wawra (Rubiaceae): micromorphology, anatomy and cristals microanalysis. *Acta Bot. Bras.* 23: 1034–1039.
- Muravnik LE, OV Kostina & AL Shavarda. 2014.** Development, structure and secretion compounds of stipule colleterers in *Pentas lanceolata* (Rubiaceae). *S. Afr. J. Bot.* 93: 27–36.
- Nepi M. 2007.** Nectary structure and ultrastructure. In: Nicolson SW, Nepi M, Pacini E, eds. *Nectaries and nectar*. Dordrecht: Springer, 129–166.
- Paiva EAS. 2017.** How does the nectar of stomata-free nectaries cross the cuticle? *Acta Bot. Bras.* 31(3): 525–530.
- Piesscharet F, Jansen S, Jaimes I, Robbrecht E & E Smets. 2001.** Morphology, anatomy, and taxonomic position of *Pagameopsis* (Rubiaceae-Rubioideae). *Brittonia* 53(4): 490–504.
- Puff C, Buchner R & A Igersheim. 1996.** *Dichilanthe*, an unusual Asiatic Rubiaceae with “Lonicera flowers” and “dipterocarp fruits”. *Nordic Journal of Botany* 16: 145–164.
- Robbrecht E. 1988.** Tropical woody Rubiaceae. *Opera Bot. Belg.* 1: 1–271.
- Sanz-Veiga PA, Jorge LR, Benitez-Vieyra S & FW Amorim. 2017.** Pericarpial nectary-visiting ants do not provide fruit protection against pre-dispersal seed predators regardless of ant species composition and resource availability. *PLoS ONE* 12(12): e0188445.
- Schmid R. 1988.** Reproductive versus extra-reproductive nectaries – historical perspective and terminological recommendations. *Bot. Rev.* 54, 179–232.
- Smets E. 1968.** Localization and systematics importance of the floral nectaries in the Magnoliata (Dicotyedons). *Bull. Jard. Bot. Nat. Belg.* 56: 51–76.
- Smets E. 1988.** La présence des “nectaria persitentia” chez les Magnoliophytina (Angiosperms). *Candollea* 43: 709–716.
- Solereder H. 1908.** Systematic anatomy of the Dicotyledons. Clarendon, Oxford.
- Thomas V. 1991.** Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. *Ann. Bot.* 68: 287–305.

- Thomas V & Y Dave. 1989.** Structure, origin, development and senescence of colleters in *Nerium indicum* Mill. (*N. odorum* Soland., Apocynaceae). *Korean J. Bot.* 32: 163–172.
- Tresmondi F, Nogueira A, Guimarães E & SR Machado. 2015.** Morphology, secretion composition, and ecological aspects of stipular colleters in Rubiaceae species from tropical forest and savana. *Sci. Nat.* 102:73.
- Vitarelli NC & Santos M. 2009.** Anatomia de estípulas e coléteres de *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). *Acta bot. Bras.* 23 (4): 923–928.
- Vogel S. 1977.** Nectaries and their ecological significance. *Apidologie* 8: 321–336.
- Zimmermann J. 1932.** Über die extrafloralen nektarien der Angiospermen. Beihefte zum.

Capítulo II: Androceo. Diferenciación de la pared de la antera y del grano de polen

INTRODUCCIÓN

En Rubiaceae las descripciones anatómicas de los estambres se han centrado principalmente en especies con flores perfectas (Dedecca, 1957; Galati, 1991; Hansson & El-Ghazaly, 2000; Vinckier & Smets, 2005; Magalhães Souza *et al.*, 2008; Romero *et al.*, 2017). En la tribu *Gardenieae*, el estudio más reciente fue realizado en *Gardenia jasminoides*, especie hermafrodita con flores perfectas, donde se estudió la anatomía de la antera y la ontogenia del polen (Yue *et al.*, 2017a). Hasta el momento se desconocen otros estudios que examinen aspectos de la anatomía y sexualidad de las flores en esta tribu. Hallé (1967) menciona para *Gardenieae* cuatro mecanismos para evitar la autofecundación: 1) atracción de vectores animales de polen, 2) protandria, 3) el mecanismo Ixoroide (una forma mejorada de protandria), y 4) la unisexualidad floral. Por lo que se sabe, de este último mecanismo no hay estudios que describan las diferencias anatómicas de las flores.

Otro carácter con relevancia taxonómica en Rubiaceae es la morfología del polen (Robbrecht, 1988). Especialmente en *Gardenieae* los estudios polínicos son interesantes, ya que es la única tribu de la familia que tiene representantes con diferentes unidades de dispersión del polen:

- mónades (ej., *Alibertia*, *Cordia*, *Genipa*) (Persson, 1993),
- tétrades (ej., *Gardenia*, *Randia*) (Persson, 1993) y
- políades (ej., *Massularia*) (Hallé, 1967; Persson, 1993).

Las unidades de dispersión pueden usarse como una fuente de información para análisis filogenéticos (Dessein *et al.*, 2005).

Las orbículas también son estructuras importantes, ya que presentan variación en abundancia, tamaño, forma y ornamentación (Verstrate *et al.*, 2011), por lo que tendrían utilidad taxonómica (Romero *et al.*, 2017). Las orbículas son estructuras acelulares de esporopolenina que pueden encontrarse en las paredes tangenciales o radiales más internas

de las células del tapete (Galati, 2003; Verstraete *et al.*, 2011; Vinckier *et al.*, 2000). Su presencia se asocia generalmente a las especies con tapete secretor en Angiospermas, sin embargo, algunos taxones con este tipo de tapete carecen de orbículas (Huysmans, 1998). Otra excepción es *Gentiana acaulis* que presenta orbículas y tiene tapete ameboide (Vinckier & Smets, 2002). A pesar de que el estudio de orbículas en Rubiaceae ha adquirido mayor importancia en los últimos años (Verstraete *et al.*, 2011; Huysmans *et al.*, 1997; Huysmans, 1998; Dessein *et al.*, 2005; Verellen *et al.*, 2007; Romero *et al.*, 2017), en la tribu Gardenieae son escasos los trabajos (Vinckier *et al.*, 2000).

ESTE CAPÍTULO TIENE LOS SIGUIENTES OBJETIVOS

- 1) Realizar un análisis anatómico de la diferenciación de la antera, microsporogénesis y microgametogénesis, a fin de establecer si existen diferencias anatómicas entre las flores con diferente sexualidad; y
- 2) Aportar datos de la morfología y dispersión del polen en especies selectas de la tribu.

RESULTADOS

Tal como se describiera e ilustrara en el Capítulo I, en las especies analizadas *T. formosa*, *C. concolor*, *G. americana*, *R. calycina* y *R. sp. nov.*, el androceo está formado por estambres alternos a los lóbulos de la corola (Figs. 2 B; 3 C, H; 4 B, G; 5 B, E, H, K; 6 B, E, I). Las anteras son bitecas, dorsi-medifijas y están soldadas al tubo corolino por un corto filamento. En las FFP el androceo se diferencia porque tiene estaminodios con anteras que no producen polen. En la antesis floral, las anteras de las FP y de las FFE presentan anteras abiertas con polen expuesto, mientras que en las FFP éstas se encuentran cerradas.

DIFERENCIACIÓN DE LA ANTERA Y DE LOS GRANOS DE POLEN

En las especies analizadas se distinguieron seis estados, basados en la diferenciación de la pared de la antera, microsporogénesis y microgametogénesis, con finalidad comparativa. En cada estado se describen características generales a todas las especies y particulares a cada taxón y cada tipo de flor. El estado 1 corresponde a la secuencia de eventos y características del androceo de todos los tipos de flores, los estados de 2 a 5 corresponden a las FP y FFE, mientras que el estado denominado “X” describe el momento de detención de la diferenciación en las FFP, pudiendo ocurrir en estado células madres de las micrósporas (cmm) o tétrades. Las características de cada estado se describen a continuación y los detalles se presentan en la tabla 3.

TABLA 3. SUMARIO DE LAS CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS DEL ANDROCEO, ESTADIOS Y SU DIFERENCIACIÓN EN CADA ESPECIE Y TIPO FLORAL. Referencias: cm= capas medias, cmm= células madre de las microsporas; ple: placentoides con engrosamientos; pq= parénquima; tp= tapete.

Especie	Sexualidad de la flor	Estado de diferenciación					Unidad de dispersión/ polen número celular	Detención del diferenciación del polen	Placentoides	Dehiscencia antera	Tejidos de la pared madura				
		1. cmm	2. Meiosis	3. Tétrades de microsporas	4. 1º mitosis, polen bicelular	5. Gametogénesis					Endotecio con engrosamientos	capas medias	Tejidos abortados	Orbículas	Pollenkitt
<i>T. formosa</i>	FP						Mónades/ polen 2-celular	NO	SI, pq + tp	SI	SI + ple	NO	-	NO	SI
<i>C. concolor</i>	FFE						Mónades/ Polen 2-3-celular	NO	NO	SI	SI	NO	-	SI	SI
	FPP						Sin polen	SI, en tétrades	NO	NO	SI	SI	tétrade, tp, cm	NO	NO
<i>G. americana</i>	FEE						Mónades/ polen 2-celular	NO	NO	SI	SI	NO	-	NO	SI
	FFP						Sin polen	SI, en meiosis	NO	NO	SI	SI	cmm, tp	NO	NO
<i>R. calycina</i>	FFE						Tétrades/ polen 2-celular	NO	SI, tapetal	SI	SI	NO	-	NO	SI
	FFP						Sin polen	SI, en tétrades	SI, tapetal	NO	SI	SI	tétrades, tp	NO	NO
<i>R. sp. nov.</i>	FFE						Tétrades/ polen 2-celular	NO	SI, tapetal	SI	SI	NO	-	NO	SI
	FFP						Sin polen	SI, en cmm	SI, tapetal	NO	NO	SI	cmm, tp	NO	NO

Estado 1. Células madres de las microsporas (cmm)

Este estado ocurre en FP, FFE y FFP. Las divisiones mitóticas del tejido esporógeno originan las cmm. Éstas presentan citoplasma denso y núcleo central voluminoso y están rodeadas de una capa de calosa (Fig. 18 A, E-I). El tapete rodea completamente a cada lóculo, con células en empalizada hacia la pared de la antera y poligonales hacia el septo. El tapete es de tipo secretor con células uninucleadas y con citoplasma denso (Fig. 18 A, E-I). El resto de la pared de la antera joven posee capas medias, endotecio y epidermis. El septo presenta células alargadas (Fig. 18 B). El estomio tiene 2-3 estratos (Fig. 18 B, E). En el conectivo se reconoce un haz vascular circular, concéntrico perifloemático (Fig. 18 C). La epidermis presenta estomas (Fig. 18 D), especialmente en la zona abaxial del conectivo.

Tocoyena formosa (Fig. 18 E): los sacos polínicos tienen forma de “C” y las cmm se disponen en una hilera, ya que las células del septo se dividen e invaden cada saco polínico, formando un placentoide, formado por células parenquimáticas y tapetales. El placentoide puede dividir el saco polínico. El tapete es 1-2 estratificado hacia la pared de la antera, mientras que en la zona del placentoide el número de estratos es variable. El endotecio tiene 1-4 estratos y hay 2-3 capas medias. Las células parenquimáticas del placentoide, septo y conectivo presentan drusas e idioblastos taníferos de gran tamaño.

Cordia concolor (Fig. 18 D, F): las anteras (en FFE y FFP) presentan sacos polínicos ovalados en transcorte. El tapete tiene células con una gran vacuola. La epidermis presenta taninos. El endotecio tiene un estrato y hay 1-2 capas medias.

Genipa americana (Fig. 18 G): ambos tipos de flores (FFE y FFP) presentan sacos polínicos ovalados. El tapete es 1-3 estratificado, tiene células uninucleadas con varios nucléolos. El endotecio es 1-estratificado en las FFE y 1-3 estratificado en las FP. Las capas medias tienen 1-3 estratos en las FFE y 1-2 estratos en las FP.

Randia calycina (Fig. 18 A-C, H) y *Randia sp. nov.* (Fig. 18 I): las FFE y FFP tienen anteras con sacos polínicos semilunares por presencia de placentoide tapetal. El tapete presenta uno a varios estratos y tiene células uninucleadas y con una gran vacuola. El endotecio es 1-3 estratificado y hay 1-2 capas medias. En *Randia sp. nov.* el endotecio es 1-3 estratificado en las FFE y 2-3 estratificado en las FP. Las capas medias tienen 2 estratos en las FFE y 2-3 estratos en las FP. Estas especies tienen drusas en el conectivo.

Considerando que la diferenciación del polen se detiene en las FFP y hay algunas desigualdades en la diferenciación de la pared de la antera, a partir de este estado los eventos que ocurren en las FFP se describen en el estado “X”.

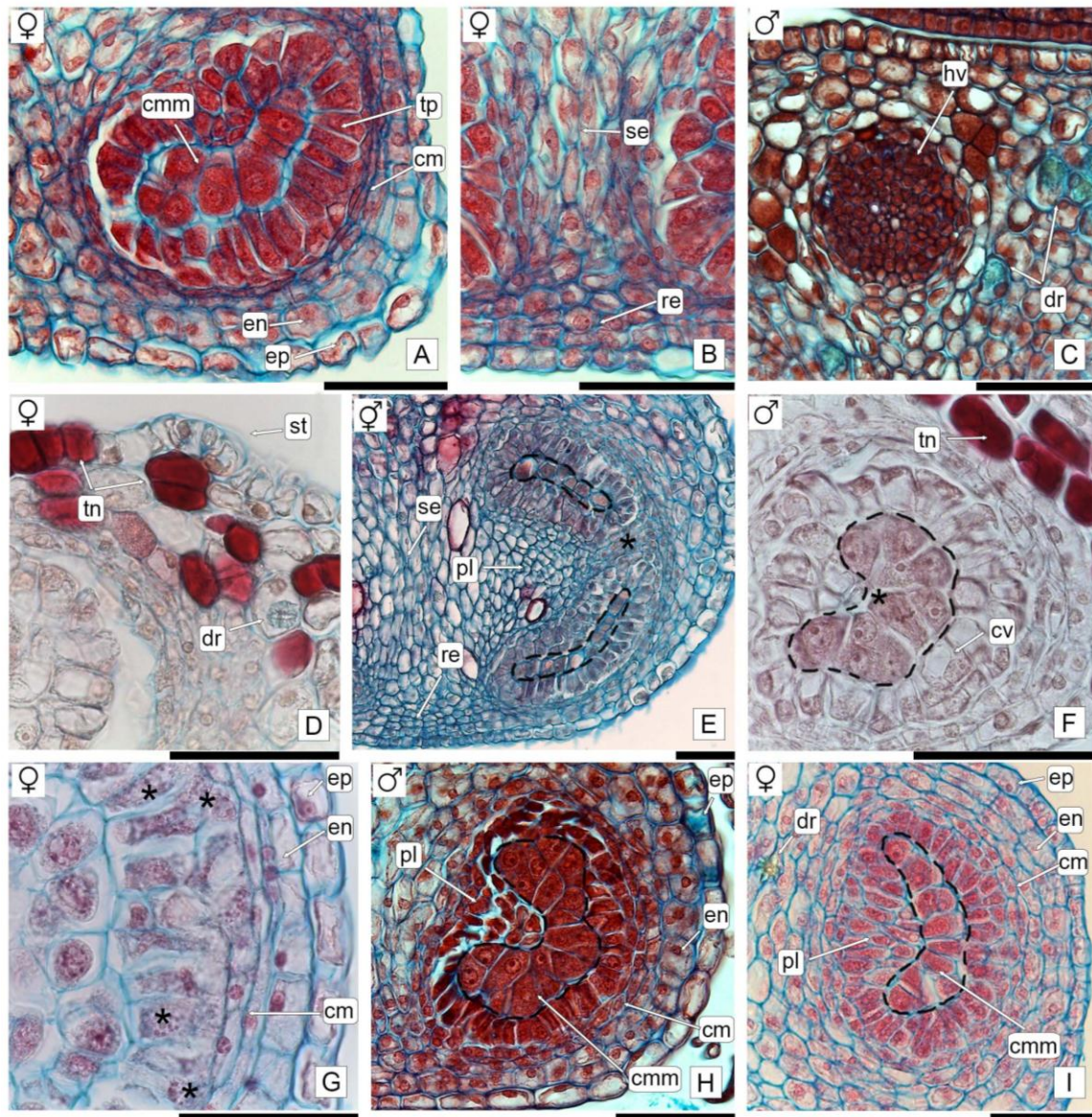


FIGURA 18. TRANSCORTE DE ANTERAS EN ESTADO DE CÉLULAS MADRES DE LAS MICROSPORAS. A-C, H. *R. calycina*. D, F. *C. concolor*. E. *T. formosa*. G. *G. americana*. I. *R. sp. nov.* A. Porción de la antera donde se distingue las cmm y los estratos parietales. B. Septo y región del estomio. C. Detalle del haz vascular y de las células con drusas en conectivo. D. Porción del conectivo donde se observan: estoma, drusa, células con tanino en epidermis y parénquima. E. Detalle del placentoides (parénquima + tapete), el lóculo se divide en dos (*) por invasión del placentoides. F. Detalle de la antera, se observa: epidermis con tanino y células del tapete con una gran vacuola; nótese la cmm central (*) en meiosis. G. Pared de la antera, las células del tapete con varios nucléolos (flechas). H. Antera de una FFE donde se observa el

placentoide tapetal. **I.** Antera de una FFP donde se observa el placentoide tapetal y drusa en el conectivo. **Referencias:** **cv**= célula vacuolada; **dr**= drusa; **en**= endotecio; **ep**= epidermis, **cm**= capas medias; **cmm**= célula madre de la microspora; **hv**= haz vascular; **pl**= placentoide; **re**= región del estomio; **se**= septo; **st**= estoma; **tn**= tanino; **tp**= tapete. **Escala:** 50 μ m.

Estado 2. Tétrades

Luego de la meiosis de las cmm (Fig. 19 A) se originan tétrades, tetraédricas (Fig. 19 B) y decusadas (Fig. 19 C), continúan rodeadas de calosa. El lóculo aumenta de volumen. Las células de las capas medias colapsan, esto se caracteriza por la disminución de tamaño de las células y el citoplasma oscuro. Las células del tapete y del endotecio incrementan en volumen.

Tocoyena formosa (Fig. 19 D-E): las células tapetales del placentoide se hacen más notorias. En *C. concolor* (Fig. 19 F) cada saco polínico se torna circular. En *G. americana* (Fig. 19 G-I) el conectivo tiene taninos y drusas, estas últimas están presentes también en el septo. En *R. sp. nov.* (Fig. 19 J) el placentoide tapetal empieza a retraerse, su tamaño disminuye por la pérdida de volumen de sus células.

Estado 3. Microsporas

En FP y FFE de *T. formosa*, *C. concolor* y *G. americana* la calosa que rodea a las tétrades se desintegra liberando a las microsporas a los sacos polínicos (Fig. 20 A). En las especies de *Randia*, las microsporas quedan unidas formando tétrades permanentes (Fig. 20 B). En ambos casos, cada microspora presenta un núcleo central que luego es desplazado a la periferia por una vacuola (Fig. 20 A-B).

Tocoyena formosa: en las células del tapete el citoplasma se contrae y luego se vacuoliza (Fig. 20 D-E). El placentoide disminuye de volumen debido a que las células tapetales se desintegran (Fig. F). Las células del estomio acumulan granos de almidón simples (Fig. 20 G).

Cordia concolor (Fig. 20 H) y *Genipa americana* (Fig. 20 I): el tapete y las células de la epidermis empiezan a perder su forma. Las células del septo pierden volumen.

Randia spp.: en las FFE las células del tapete son de mayor volumen pero el citoplasma está retraído. El placentoide se retrae.

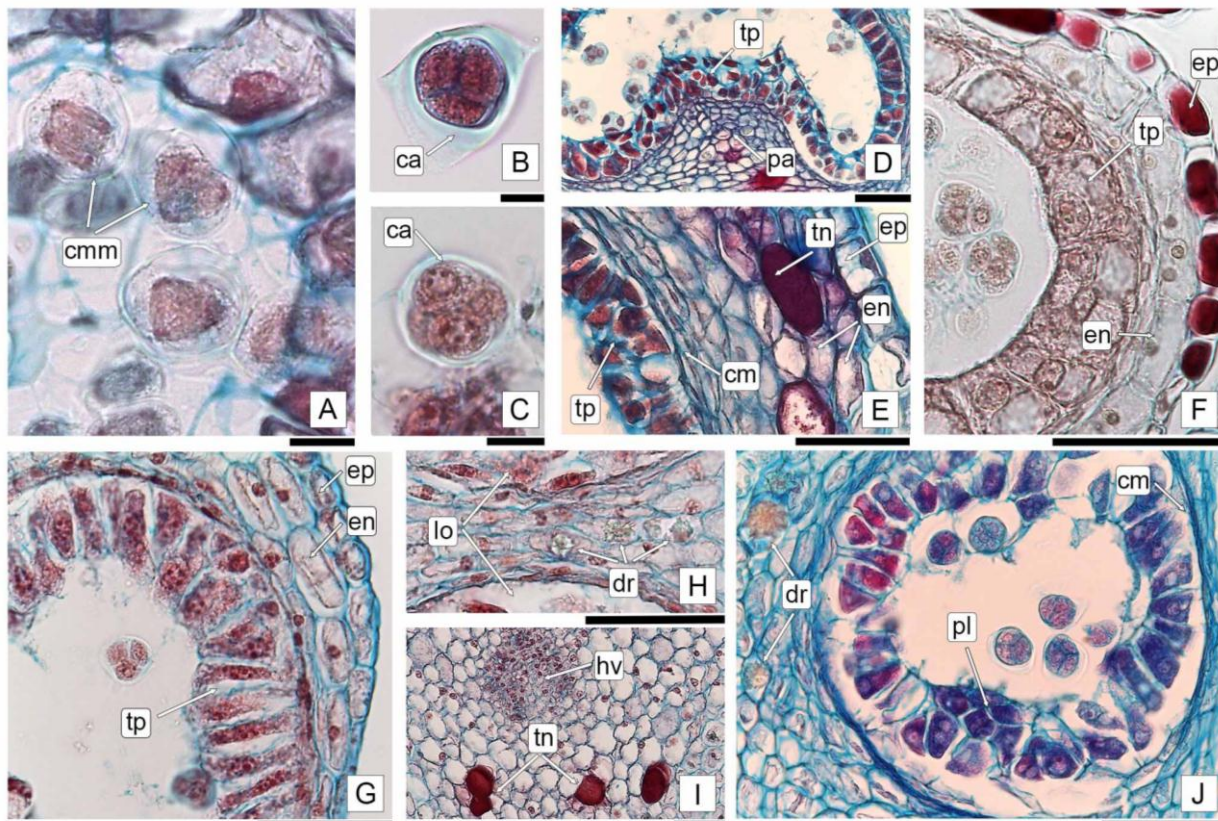


FIGURA 19. TRANSCORTE DE ANTERAS EN ESTADO DE TÉTRADES. A, F. *C. concolor*. B, J. *R. sp. nov.* D-E. *T. formosa*. C, G-I. *G. americana*. A. Detalle de las cmm en meiosis. **B.** Tétrade tetraédrica. **C.** Tétrade decusada. **D.** Detalle del placentoide formado por parénquima + tapete. **E.** Detalle de la pared de la misma antera que en **D**. **F.** Pared de la antera mostrando las células del tapete de mayor volumen y el endotecio con un estrato de células. **G.** Pared de la antera mostrando las células del tapete alargadas. **H.** Septo con drusas. **I.** Detalle del conectivo con células taníferas. **J.** Lóculo donde se observa la retracción del placentoide tapetal. **Referencias:** **ca**= calosa; **cm**= capas medias; **cmm**= células madres de las microsporas; **dr**= drusa; **en**= endotecio; **ep**= epidermis; **lo**= lóculo; **pa**= parénquima; **pl**= placentoide; **tn**= tanino; **tp**= tapete. **Escala:** 50 μ m.

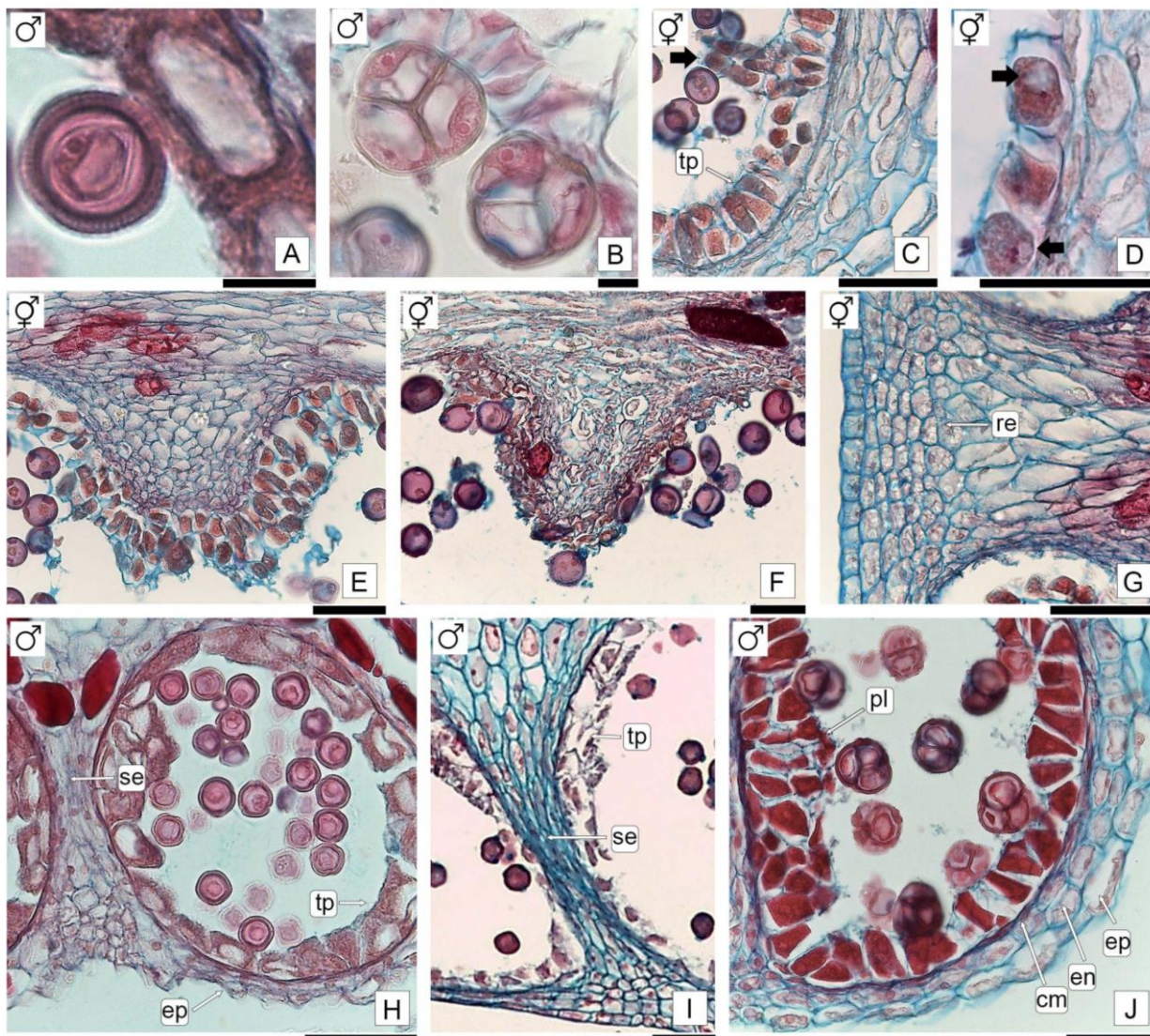


FIGURA 20. TRANSCORTE DE ANTERAS EN ESTADO DE MICROSPORAS. A, H. *C. concolor*. B. *R. sp. nov.* C-G. *T. formosa*. I. *G. americana*. J. *R. calycina*. A. Microspora libre, el núcleo está desplazado por una vacuola. B. Microsporas unidas tétrades permanentes. C. Pared de la antera con las células del tapete con citoplasma contraído, parte del placentoide (flecha) ha invadido el saco polínico. D. Detalle de células tapetales vacuoladas (flecha). E, F. Placentoide en retracción por el colapso de las células tapetales. G. Región del estomio con células que almacenan granos de almidón. H. Saco polínico con microsporas libres. I. Tapete desintegrado y células del septo comprimidas. J. Saco polínico con tétrades permanentes; células del tapete y del placentoide empiezan a colapsar. Referencias: cm= capas medias; en= endoteco; ep= epidermis; pa= parénquima; pl= placentoide; re= región del estomio; tn= tanino; tp= tapete. Escalas: A-B= 10 μ m; C-J= 50 μ m.

Estado 4. Granos de polen

La división mitótica del núcleo de cada microspora origina las células vegetativa y generativa (Fig. 21 A). Cada grano presenta tres aberturas, de las que se proyecta un oncus (Fig. 21 B). El tapete se desorganiza y colapsa. El endotecio desarrolla engrosamientos fibrosos. La epidermis colapsa (Fig. 21 B-F, H-I). Las descripciones morfológicas del polen de las especies analizadas se detallan más adelante.

Tocoyena formosa: el endotecio consta de 3-4 capas de células en la pared de la antera, disminuyendo a 2-estratificado hacia el estomio y hasta 5-estratificado en zona del conectivo (Fig. 21 C-D). El tejido parenquimático del placentoides también desarrolla engrosamientos fibrosos (Fig. 21 C-D). Posteriormente las células más internas del estomio se desintegran por lo que hay fusión de los sacos polínicos en cada teca (Fig. 21 D).

Cordia concolor (Fig. 21 E-F) y *Genipa americana* (Fig. 21 H): el septo desarrolla engrosamientos fibrosos. Las células del estomio han perdido volumen. No hay fusión entre los lóculos de cada teca. Esta es la única especie donde se observan orbículas en la cara tangencial interna de la membrana tapetal en anteras de las flores FFE (Fig. 21 F). En el conectivo las células parenquimáticas acumulan granos simples de almidón (Fig. 21 G).

Randia spp. (Fig. 21 I): el placentoides tapetal desaparece junto con el tapete. Las células del estomio han perdido volumen. Las células del septo colapsan y se desintegran lo que ocasiona la fusión de los sacos polínicos de la antera.

Estado 5. Dehiscencia de la antera

Como consecuencia de la desintegración de las células del estomio, las anteras de las FP y FFE de todas las especies analizadas, sufren dehiscencia longitudinal (Fig. 21 J-K). El polen es liberado en estado 2-celular (Fig. 21 L). Solo en *C. concolor* se han observado granos que se liberan en estado 3-celular (Fig. 21 M).

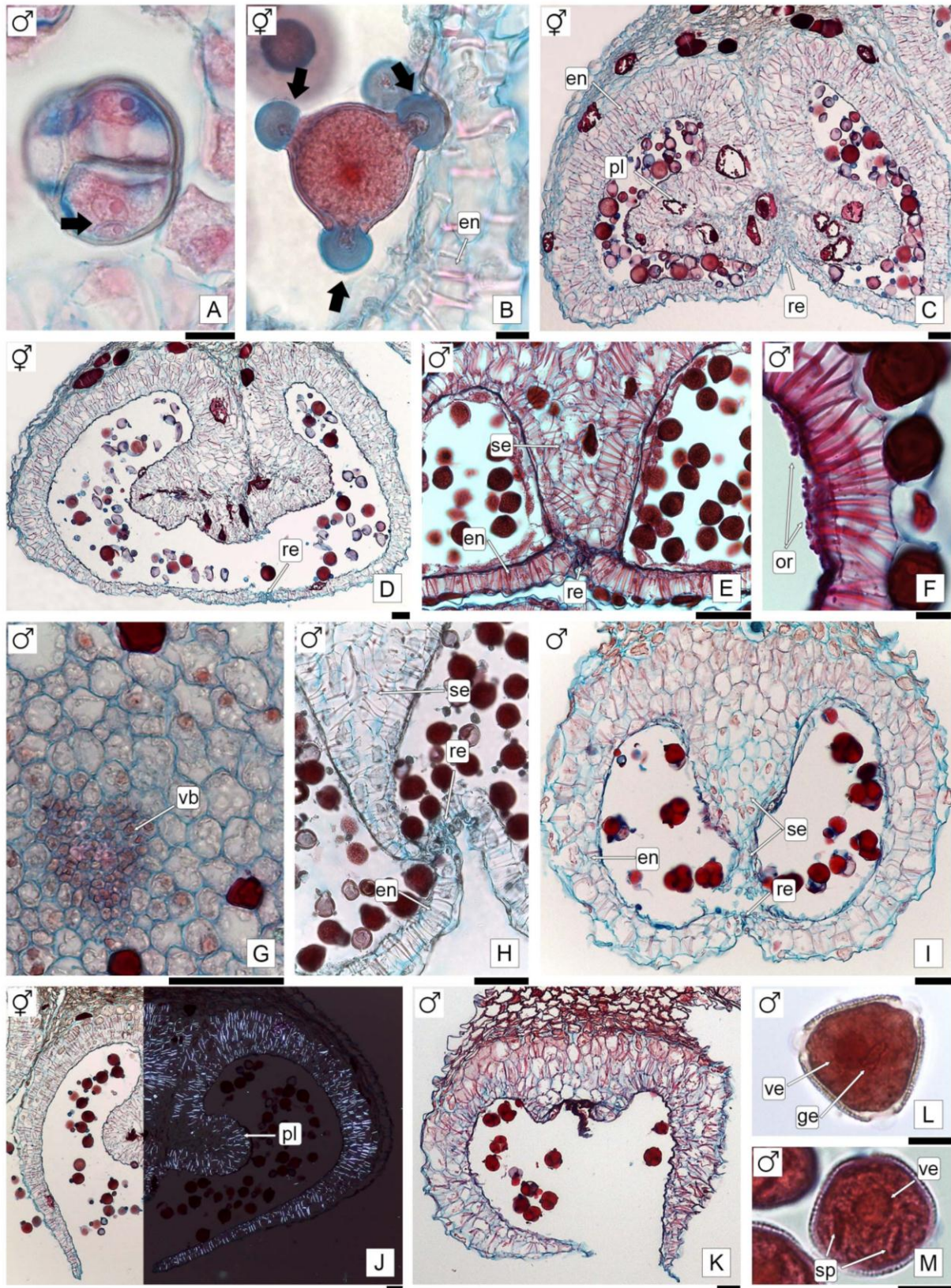


FIGURA 21. TRANSCORTE DE ANTERAS EN ESTADO GRANOS DE POLEN (A-I) Y DEHISCENCIA (J-M). A. *Randia sp. nov.* B-D, J. *T. formosa.* E-G, L-M. *C.concolor.* H. *G. americana.* I, K. *R. calycina.* A. El núcleo de la micróspora se ha dividido (flecha) originando a las células vegetativa y generativa. **B.** Grano de polen con un oncus (flechas) que se protruye de cada abertura. **C.** Endotecio multiestratificado y placentoide, ambos con engrosamientos fibrosos. **D.** Fusión de los sacos polínicos por la desintegración de las células más internas de la región del estomio. **E.** Septo con engrosamientos fibrosos, no hay fusión de lóculos. **F.** Orbículas en la membrana tapetal. **G.** Conectivo con células con granos de almidón. **H.** Septo con engrosamientos fibrosos, no hay fusión de lóculos. **I.** Las células del septo colapsan y se desintegran, los sacos polínicos se fusionan en un lóculo común. **J-K.** Anteras dehiscentes, nótese en **J** el placentoide con engrosamientos fibrosos (porción derecha con luz polarizada). **L.** Grano de polen liberado en estado 2-celular. **M.** Grano de polen liberado en estado 3-celular. **Referencias:** ge= célula generativa, ve= célula vegetativa, or= orbículas, sp= células espermáticas. **Escala:** A-B, L-M= 10 µm; C-K= 50 µm.

Estado X. Detención de la diferenciación

La secuencia de eventos de detención de la diferenciación del polen se produce con exclusividad en las FFP de *C. concolor*, *G. americana*, *R. calycina* y *R. sp. nov.* (Fig. 22). El momento en el que este proceso se detiene varía entre las especies. Con microscopía óptica se reconoce que las cmm o las tétrades se vuelven oscuras y el citoplasma se observa retraído (Fig. 22). Mientras se produce el aborto de los tejidos sexuales, la pared de la antera continúa mostrando una diferenciación normal. El tapete pierde su forma y empieza a retraerse (Fig. 22 J, M). Los lóculos disminuyen de volumen hasta quedar lineares. Las anteras son indehiscentes y el tejido abortado se mantiene en su interior (Fig. 22 C, G, J-K, N).

Cordia concolor: la meiosis y citocinesis se producen y se forman tétrades, pero abortan y los sacos polínicos pierden su forma (Fig. 22 A-B). Las células del tapete colapsan. El endotecio desarrolla engrosamientos. Las células de la capa media aumentan de volumen. El estomio colapsa y los sacos polínicos de cada teca se acercan entre sí (Fig. 22 C).

Genipa americana: las cmm en diferentes estados de la meiosis abortan (Fig. 22 D-E). Las células del endotecio y de las capas medias aumentan de volumen. Los sacos polínicos se estrechan. Posteriormente el endotecio desarrolla engrosamientos. En el conectivo las células epidérmicas y parenquimáticas de la región abaxial (orientada hacia la corola) proliferan y aumentan de volumen. Con el crecimiento del parénquima y el colapso del estomio, los lóculos de cada teca se aproximan y las tecas quedan hacia el lado adaxial de la antera, que adquiere forma de C (Fig. 22 G).

Randia calycina: las tétrades formadas abortan (Fig. 22 H-I). Los sacos polínicos se vuelven lineares por la pérdida de volumen de las células del septo (Fig. 22 J-K). A causa del aumento de volumen de las células del septo los lóculos se tornan lineares. La pérdida de volumen de las células del estomio hace que los lóculos se aproximen entre sí (Fig. 22 K).

Randia sp. nov.: las cmm abortan (Fig. 22 L-M). El tapete pierde su forma y el citoplasma se observa retraído. El endotecio aumenta de volumen, esto junto con la pérdida de volumen de las células del estomio hace que los sacos polínicos se aproximen entre sí. Los lóculos se vuelven lineares y las células del septo aumentan de tamaño. El endotecio no desarrolla engrosamientos. Los tejidos de la pared de la antera colapsan (Fig. 22 N).

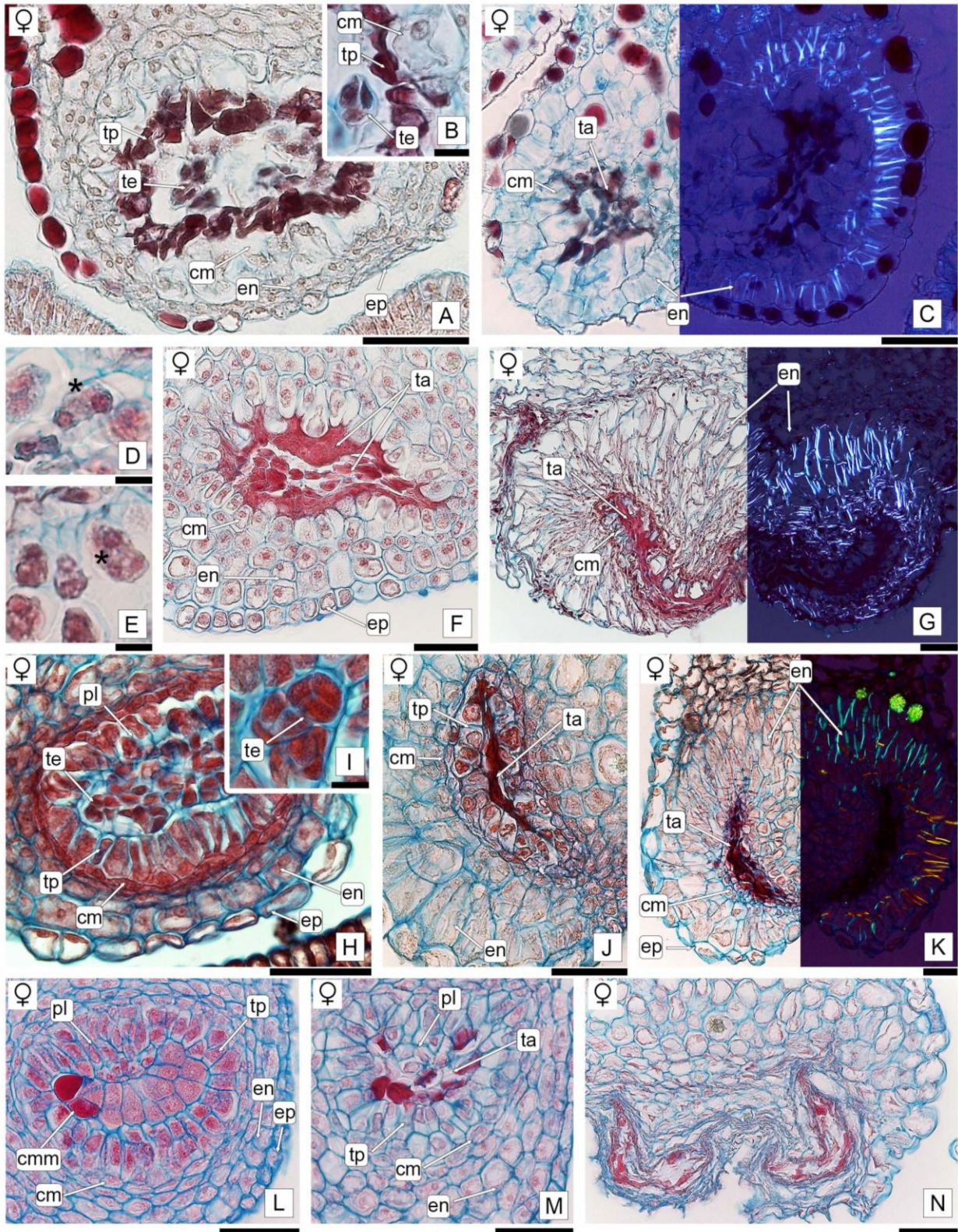


FIGURA 22. TRANSCORTE DE ANTERAS CON DETENCIÓN DE LA DIFERENCIACIÓN. A-C. *C. concolor*. D-G. *G. americana*. H-K. *R. calycina*. L-N. *R. sp. nov.* A. Saco polínico con tétrades y el tapete colapsados, las capas medias con células de mayor volumen. B. Detalle de tétrade colapsada. C. Endotecio con engrosamientos, lóculos reducidos con tejidos abortados; porción derecha de la imagen con luz polarizada. D-E. cmm en distintas etapas de la meiosis (*). F. Sacos polínicos reducidos con tapete y células madres abortados, capas medias de mayor volumen. G. Endotecio con engrosamientos, estomio colapsado y sacos polínicos lineares y cercanos entre sí; derecha de la imagen con luz polarizada. H. Las tétrades formadas empiezan a colapsar. I. Tétrades rodeadas de calosa. J. Sacos polínicos lineares con las tétrades abortadas, las células del tapete y del placentode presentan el citoplasma contraído, las capas medias aún están presentes y las células del endotecio son voluminosas. K. Endotecio con engrosamientos fibrosos, tapete colapsado y lóculos cercanos entre sí; derecha de la imagen con luz polarizada. L. cmm empiezan a colapsar, el citoplasma del tapete comienza a contraerse. M. Las células del tapete y del placentode con citoplasma totalmente contraído, lóculo reducido y cmm abortadas. N. Teca completamente colapsada; sacos polínicos lineares con células abortadas en su interior. Referencias: cm= capas medias; cmm= células madres de las microsporas; en= endotecio; ep= epidermis; pl= placentodie; ta= tejido abortado; te= tétrade; tp= tapete. Escalas: B, D-E, I= 10 µm; A, C, F-H, J-N= 50 µm.

MORFOLOGÍA Y UNIDADES DE DISPERSIÓN DEL POLEN

Las diferencias halladas en los granos de polen se dan en el tipo de unidad de dispersión, tamaño, forma de las aberturas y el diseño de exina (Tabla 4, Fig. 23). El polen de *Randia calycina* ha sido descrito en un trabajo previo por la autora y los datos se utilizan para compararlos con las especies del trabajo actual (Judkevich *et al.* 2015, indicado con * en la tabla 4).

En ambas especies de *Randia* las tétrades pueden ser tetraédricas (Fig. 23 J) o decusadas (Fig. 23 M), en los dos casos se observa que la exina es discontinua en la unión entre las mónades (Fig. 23 J, L-O), por lo que son del tipo acalimadas.

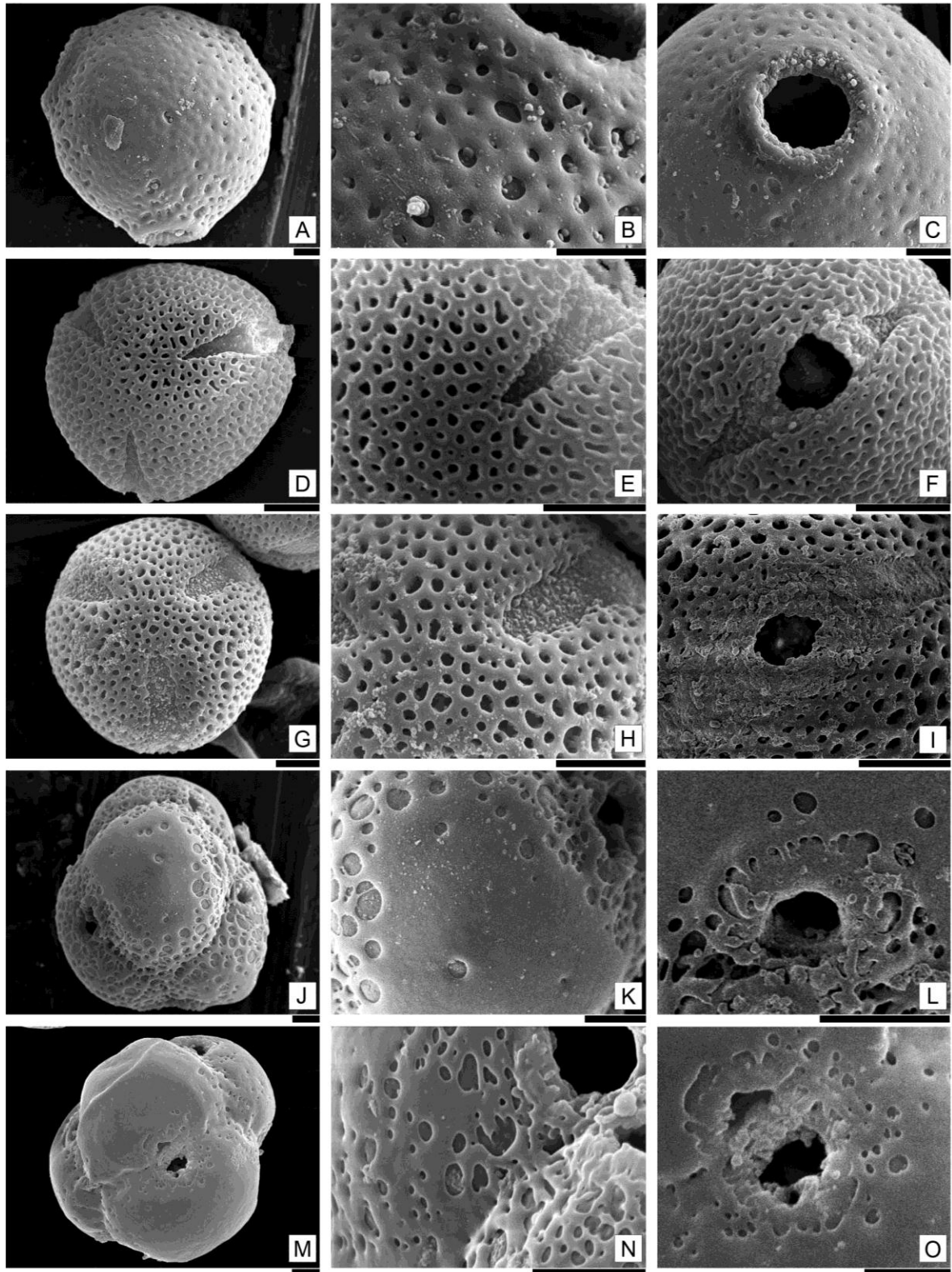


FIGURA 23. MORFOLOGÍA DE LOS GRANOS DE POLEN (MEB). A-C. *T. formosa*. D-F. *C. concolor*. G-I. *G. americana*. J-L. *R. calycina*. M-O. *R. sp. nov.* A, D, G, J, M. Vista general del polen. B, E, H, K. Detalle de la exina. C, F, I, L, O. Detalle de la abertura. Escalas: 5 μ m.

TABLA 4: MORFOLOGÍA Y UNIDADES DE DISPERSIÓN DEL POLEN EN LAS ESPECIES ANALIZADAS DE GARDENIEAE. Referencias: DT: diámetro de tétrade, **DEG**= diámetro ecuatorial del grano de polen, **EPG**= longitud del eje polar del grano de polen.

Especie	Unidad de dispersión	Dimensiones del grano de polen (μm)	Forma del grano	Exina	Aberturas
<i>T. formosa</i>	Mónades	EPG: 47,9–55,1 DEG: 47,3–54,8	Oblado-esferoidal	Foveolada, 1,24–2,22 μm de espesor	Tres poros circulares
<i>C. concolor</i>	Mónades	EPG: 27,7–30,7 DEG: 31,1–33,9	Suboblado	Reticulada, heterobrocada, 1,11–1,69 μm de espesor	Tres colporos; colpos con extremos agudos, membrana lisa con gránulos dispersos aleatoriamente; endoapertura lolongada
<i>G. americana</i>	Mónades	EPG: 29,7–34,1 DEG: 31,5–36,5	Oblado-esferoidal	Reticulada, heterobrocada, 0,77–1,66 μm de espesor	Tres colporos; colpos con extremos agudos, membrana lisa con gránulos dispersos aleatoriamente; endoapertura lolongada
<i>R. calycina</i> *	Tétrades tetraédricas DT: 43,0–63,0 μm	EPG: 27,3–29,8 DEG: 32,7–33,7	Oblado-esferoidal	Psilada (a foveolada en el presente trabajo), 1,19–1,5 μm de espesor	Tres poros circulares por grano
	Tétrades decusadas DT: 55,1–56,4 μm	EPG: 27,6–28,8 DEG: 33,0–34,2			
<i>R. sp. nov.</i>	Tétrades tetraédricas DT: 53,5–65,6 μm	EPG: 26,0–36,7 DEG: 37,2–45,1	Oblado-esferoidal	Psilada a foveolada, 1,0–1,7 μm de espesor	Tres poros circulares por grano
	Tétrades decusadas DT: 57,3–62,9	EPG: 27,6–32,9 DEG: 36,4–44,1			

POLLENKITT

En todas las FP y FFE de las especies analizadas se observó que el polen presenta pollenkitt, tanto los granos liberados en mónades (Fig. 24 A-C) como en tétrades (Fig. 24 A'-C'). Las FP no forman pollenkitt. El pollenkitt es de color ámbar y se encuentra en forma de pequeñas gotas distribuidas en toda la superficie del polen. Las pruebas con Sudán III dieron positivas, el pollenkitt se colorea de naranja oscuro indicando su naturaleza lipídica. Las pruebas con Lugol son negativas, indicando la ausencia de carbohidratos en dicha sustancia.

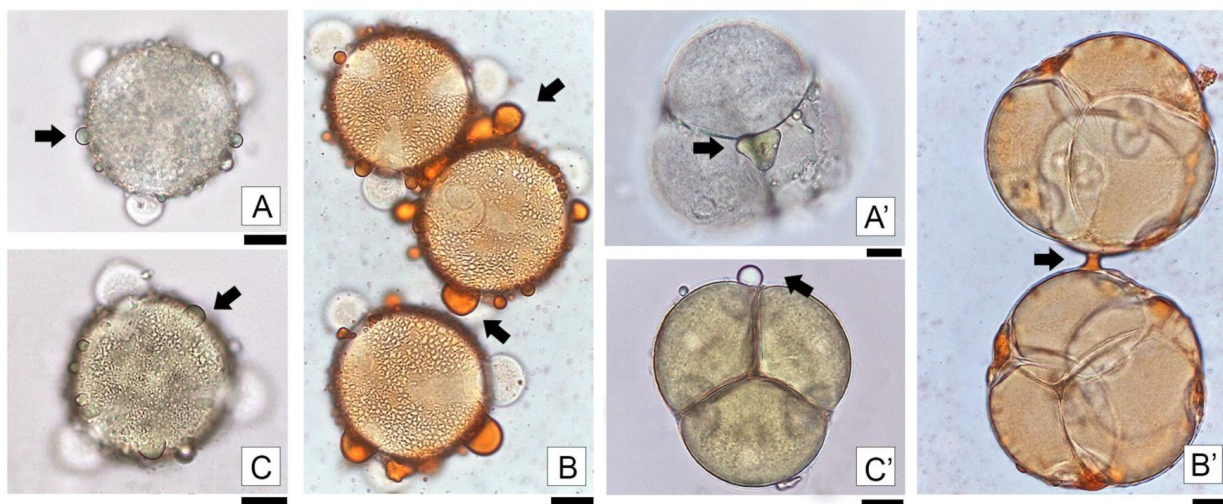


FIGURA 24. GRANOS DE POLEN DE MATERIAL FRESCO (FFE) LIBERADOS CON POLLENKITT (MO). A-C. *G. americana*, mónades. A'-C'. *R. sp. nov.* tétrades permanentes. A, A'. Granos con pollenkitt (flecha) de color ámbar. B, B'. Granos con Sudán III; pollenkitt (flecha) con reacción positiva. C, C'. Granos con Lugol; pollenkitt (flecha) con reacción negativa. Escalas: 10 µm.

ORBÍCULAS

Están presentes únicamente en anteras de las FFE de *Cordia concolor*. Son abundantes y se encuentran aleatoriamente dispersas sobre la cara tangencial interna de las células del tapete y en la membrana tapetal (Fig. 21 F, 25 A-B). Tienen forma esférica, a veces ligeramente alargada y presentan un diámetro de 0.1–0.3 µm. Forman agregados circulares de 1.0–1.7 µm de diámetro. La superficie de las orbículas es lisa.

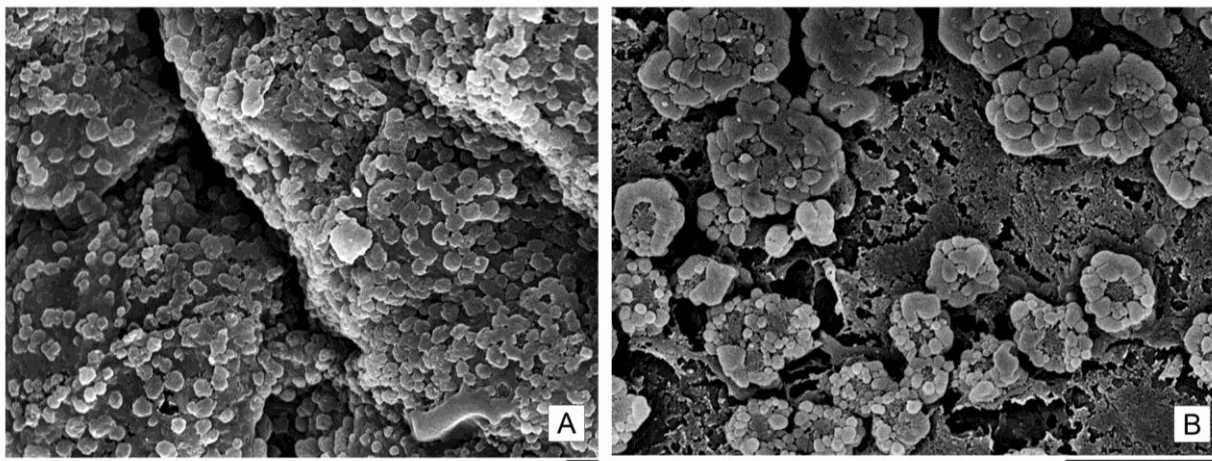


FIGURA 25. ORBÍCULAS DE *CORDIERA CONCOLOR* (MEB). A. Vista general. B. Detalle de las orbículas formando agregados. Escalas: 2 μ m.

DISCUSIÓN

MORFOLOGÍA FLORAL Y SEXUALIDAD

Desde el inicio de los estudios botánicos los autores han reconocido flores con ambos órganos sexuales, denominadas perfectas o hermafroditas y flores imperfectas de dos tipos: en el primer tipo la flor es pistilada o estaminada según el verticilo fértil funcional presentando además los rudimentos del opuesto: androceo o gineceo respectivamente; en el segundo tipo la flor imperfecta tiene solo uno de los verticilos fértiles, sin vestigios del opuesto (Darwin, 1877).

Las flores de *Tocoyena formosa* son perfectas, siendo la morfología general coincidente con la descrita para las flores hermafroditas de Rubiaceae por Robbrecht (1988). En cambio, *Cordiera concolor*, *Genipa americana*, *Randia calycina* y *R. sp. nov.* fueron descritas como especies con dioecia críptica, con flores funcionalmente unisexuales, pistiladas o estaminadas con los órganos del verticilo fértil opuesto rudimentarios (Mayer & Charlesworth, 1991; Li *et al.*, 2010).

En las Angiospermas, Mitchell & Diggle (2005) definieron a las flores unisexuales como **TIPO I** si se produce aborto de un verticilo sexual y como **TIPO II** a la flor unisexual desde el inicio de su formación. En el presente estudio pudimos determinar que en todas las especies analizadas las flores funcionalmente pistiladas (FFP), el androceo presenta estambres cuyos tejidos estériles se forman con normalidad, siguiendo el mismo esquema de diferenciación que

las flores perfectas (FP) o funcionalmente estaminadas (FFE); sin embargo la formación del polen se detiene en etapas de microsporogénesis, resultando en flores morfológicamente perfectas pero funcionalmente pistiladas. En las FFE las anteras siguen el mismo plan de diferenciación que las de las FP, abortando la formación de óvulos. Siguiendo la clasificación de Mitchell & Diggle (2005) para Angiospermas, las especies dioicas de *Gardenieae* estudiadas en este trabajo, las flores estaminadas pertenecen al **TIPO I**.

PARED DE LA ANTERA

Tanto las flores perfectas como las FFP y FFE presentan similar estructura y diferenciación en la pared de la antera.

Epidermis: hay estomas presentes en la epidermis que recubre el conectivo de todas las especies analizadas. Si bien su función ha sido asociada a promover la deshidratación de la antera y así favorecer la dehiscencia (Schmid, 1976; Kenda, 1952; Keijzer *et al.*, 1987; Wilson *et al.*, 2011), esta hipótesis no se aplicaría en las *Gardenieae* analizadas, ya que hay estomas aún en FFP, cuyas anteras no se abren.

Endotecio: varía entre 1 a 3 capas y en los tres tipos de flores se producen engrosamientos fibrosos. Endotecio con varios estratos de células se han mencionado previamente en la *Gardenieae* *Gardenia jasminoides* (Yue *et al.*, 2017a).

Capas medias: su permanencia ha mostrado variación entre las anteras de los distintos tipos de flores analizadas. En las FP y las FFE estas capas colapsan tempranamente, tal como fuera descrito para flores perfectas de otras Rubiáceas (Dedecca, 1957; Galati, 1991; Hansson & El-Ghazaly, 2000; Vinckier & Smets, 2005; Magalhães Souza *et al.*, 2008; Romero *et al.*, 2017; Yue *et al.*, 2017a). Sin embargo, en las flores FFP de *C. concolor*, *G. americana* y *R. calycina*, las capas medias pueden persistir incluso cuando la antera ya presenta endotecio con engrosamientos. Se ha observado que en cultivares de flores con anteras fértiles y de flores con anteras estériles de *Actinidia deliciosa* (Actinidiaceae, Falasca *et al.*, 2013) tanto el tapete como las capas medias tienen actividad secretora. En las flores de *A. deliciosa* con esterilidad masculina las capas medias persisten luego del colapso del tapete ocasionando la secreción prolongada de componentes de la exina, lo que resulta en anomalías en las microsporas. A diferencia de esta especie, en las especies analizadas de *Gardenieae* la diferenciación del polen se detiene antes del estado de microsporas. Por lo que debería evaluarse con otras técnicas de

estudio, si las capas medias participarían en la esterilidad de la antera en etapas más tempranas o si no tienen relación con la detención de la diferenciación del polen.

Tapete: en las especies analizadas es del tipo secretor, lo que concuerda con el tipo descrito para otras Rubiáceas (Galati 1988; Vinckier & Smets 2005; Hansson & El-Ghazaly, 2000; Romero *et al.*, 2017; Yue *et al.*, 2017a). La presencia de 1-3 estratos de células tapetales hacia el conectivo ha sido observado previamente en otras especies de Rubiaceae como *Mitriostigma axillare* (Hansson & El-Ghazaly, 2000) y *Gardenia jasminoides* (Yue *et al.*, 2017a), ambas *Gardenieae*. Este carácter debería estudiarse en más géneros de la tribu para confirmar su generalización.

DEHISCENCIA DE LA ANTERA

En un estudio sobre la dehiscencia de las anteras, Wilson *et al.*, (2011) sintetizan la secuencia de factores claves para que este proceso ocurra: a) el endotecio desarrolla engrosamientos fibrosos, b) el septo entre los sacos polínicos de una teca sufre lisis enzimática por un proceso de muerte celular programada y c) el estomio se rompe por la tensión causada por el aumento de tamaño y volumen de los granos de polen y por la deshidratación de la antera. Esta secuencia de eventos es la que se observa en las anteras de las FP de *T. formosa* y de las FFE de *Randia*, que culmina con la dehiscencia de las anteras y liberación de granos de polen. Sin embargo, en las anteras de las FFE de *C. concolor* y *G. americana* el septo forma engrosamientos similares a los del endotecio en la pared de la antera, no se retrae y en consecuencia no hay fusión de los sacos polínicos. En estas especies la lisis del septo no es un factor esencial para que ocurra la dehiscencia, las anteras se abren porque se cumplen el resto de los factores asociados a la dehiscencia.

Por otro lado, en las anteras de las FFP no ocurre dehiscencia. El estudio anatómico reveló que en FFP de *C. concolor*, *G. americana* y *R. calycina* el endotecio maduro presenta engrosamientos, mientras que en *Randia sp. nov.* los mismos están ausentes. Esto sugiere que, al menos en estas especies, la presencia de engrosamientos en el endotecio no es un factor que asegure que la antera se abra. En estas especies el aborto de los tejidos sexuales provoca que los lóculos se retraigan y en consecuencia no se genere la presión necesaria para que el estomio se rompa. En conclusión, en las FFP la diferenciación de la pared de las anteras es normal, el aumento del tamaño de las células, la proliferación de los tejidos, la ausencia de polen y la

retracción del tejido esporógeno son determinantes para que se produzca el colapso de los lóculos y no ocurra la dehiscencia.

PLACENTOIDE

Esta estructura fue definida por Chatin (1866) como un tejido estéril de la pared de la antera de naturaleza parenquimática o tapetal que se proyecta desde el septo invadiendo el lóculo de la antera. Por su presencia, el saco polínico adquiere forma semilunar en corte transversal (Endress, 2011; Rezanejad, 2013). Se ha descrito en varias familias de Angiospermas (se citan ejemplos en la 5), pero hasta el momento no se ha mencionado en Rubiaceae.

De las especies analizadas en este trabajo, el placentoide está presente en las FP de *T. formosa* y en ambas flores unisexuales de las especies de *Randia*, siendo los primeros registros para la familia. Presentan diverso origen: exclusivamente tapetal en *Randia* y combinado en *T. formosa*: tapete y parénquima del septo, especie donde además de persistir hasta la madurez de la anteras, desarrolla engrosamientos similares a los del endotecio, sumándose a este tejido en su función.

Según Chatin (1866) y Endress (2011) este tejido colabora en la formación del polen al incrementar la superficie de contacto entre el tapete y el tejido esporógeno. El placentoide desaparecería entre el final de la maduración del polen y la antesis de la antera, momento en que pierde su función, ya que de persistir según Chatin (1866) y Rezanejad (2013) podría obstaculizar la liberación del polen. Contrariamente, Passarelli & Cocucci (2006) han observado que en las anteras de *Solanum stuckertii*, *S. confusum* y *S. glaucophyllum* el placentoide se expande; dichos autores sugieren que este tejido empujaría a los granos de polen contra la pared de la antera lo que podría favorecer su dispersión.

De las especies analizadas en el presente trabajo, en las dos especies de *Randia* al igual que en otras Angiospermas (Tabla 5), el placentoide tiene su máxima diferenciación en las anteras jóvenes y luego se retrae. Mientras que en *T. formosa* persiste incluso después de la dehiscencia. Placentoide persistentes en anteras dehiscentes han sido mencionados previamente en *Solanum stuckertii* (Passarelli & Cocucci, 2006). Sin embargo, *T. formosa* difiere de esta última especie en que el placentoide desarrolla engrosamientos similares a los del endotecio y persiste aún en la flor marchita. Esto sugiere que en *T. formosa* el placentoide cumpliría con tres funciones: en la antera joven podría colaborar con la formación del polen, mientras que en la antera madura

empujaría a los granos de polen contra la pared y participaría junto con el endotecio en la dehiscencia de la antera.

En este trabajo el placentoide es un carácter a considerar en futuros estudios que involucren la ontogenia de la antera en otras especies de Rubiaceae. Según su estructura, y analizando comparativamente en otras familias donde fuera descrito, se propone clasificar al tejido placentoide en cuatro tipos:

- Tipo I: placentoide parenquimático,
- Tipo II: placentoide tapetal,
- Tipo III: placentoide mixto (parénquima + tapete) y
- Tipo IV: similar al tipo III, pero a la madurez desarrolla engrosamientos fibrosos.

El placentoide descrito como Tipo IV en el presente trabajo, no se ha mencionado previamente en otras especies, estando presente hasta el momento solo en *Tocoyena formosa*.

TABLA 5. ESPECIES Y FAMILIA EN LAS QUE SE HA MENCIONADO LA PRESENCIA DEL PLACENTOIDE EN LA ANTERA, TIPO, DURACIÓN Y CITA BIBLIOGRÁFICA.

Espece	Familia	Tipo de placentoide	Momento de retracción	Engrosamientos	Referencias
<i>Jacaranda mimosifolia</i> (FP)	Bignoniaceae	Parenquimático	sin datos	NO	Galati & Strirmatter (1999)
<i>Tabebuia ochraceae</i> (FP)	Bignoniaceae	Parenquimático	Estado de tétrades	NO	Bittencourt Jr (1996)
<i>Tabebuia pulcherrima</i> (FP)	Bignoniaceae	Parenquimático	Estado de tétrades o posterior	NO	Bittencourt Jr & Mariath (1997)
<i>Campis radicans</i> (FP)	Bignoniaceae	Parenquimático	sin datos	NO	Tütüncü Konyar & Dane (2013)
<i>Psammosilene tunicoides</i> (FP)	Caryophyllaceae	Tapetal	grano de polen bicelular	NO	Qu <i>et al.</i> (2010)
<i>Gentiana lutea</i> (FP)	Gentianaceae	Tapetal	Después del estado de tétrades	NO	Yankova-Tsvetkova & Yurukova-Grancharova (2009)
<i>Gentiana cruciata</i> (FP)	Gentianaceae	Tapetal	sin datos	NO	Yankova & Yurukova (2010)
<i>Paulownia tomentosa</i> (FP)	Paulowniaceae	Parenquimático	sin datos	NO	Erbar & Gülden (2011)
<i>T. formosa</i> (FP)	Rubiaceae	Parenquimático y tapetal	después de la marchitez de la flor	SÍ, lignificados	este estudio
<i>R. calycina</i> (FFP + FFE)	Rubiaceae	Tapetal	Estado de tétrades en FFP y estado de granos de polen en FFE	NO	este estudio
<i>Petunia hybrida</i> (FP)	Solanaceae	Parenquimático	sin datos	NO	Rezanejad (2013)
<i>Solanum confusum</i> (FP)	Solanaceae	Parenquimático y tapetal	Justo antes de la dehiscencia	NO	Passarelli & Cocucci (2006)
<i>Solanum glaucophyllum</i> (FP)	Solanaceae	Parenquimático y tapetal	Justo antes de la dehiscencia	NO	Passarelli & Cocucci (2006)
<i>Solanum stuckertii</i> (FP)	Solanaceae	Parenquimático y tapetal	Horas después de la dehiscencia	NO	Passarelli & Cocucci (2006)

ORBÍCULAS

Dentro de la Familia Rubiaceae, las orbículas son una característica común mencionada en especies de diferentes tribus (ej.: Catesbaeeae, Ronddetieae, Cinehome, Coptosapelteae, Isertieae, Rondeletieae, Naucleaeae, Huysmans *et al.*, 1997, complejo Catesbaeeae-Chiococceae-Exostema, Huysmans *et al.*, 1999; tribus Naucleaeae y Hymenodictyeae, Verellen *et al.*, 2007; 44 tribus of Rubiaceae, Verstraete *et al.*, 2011). Sin embargo, únicamente Vinckier *et al.* (2000) encontraron orbículas en nueve de las 22 especies estudiadas de la tribu Gardenieae.

En el presente trabajo, solo *Cordiaer concolor* tiene orbículas, representando el primer registro para dicho género. La ausencia de orbículas en las otras especies aquí analizadas apoya lo mencionado por Huysmans (1998), la presencia de orbículas no está siempre asociada con el tapete de tipo secretor. Estudios de ultraestructura son necesarios para dar una descripción más detallada de las orbículas en *C. concolor*.

POLEN

Diferenciación del polen: en las FP y en las FFE el polen sigue un patrón normal de diferenciación descrito para las Angiospermas en general (Fahn, 1982; Pandey, 1997) y para las Rubiaceae en particular (Johri *et al.*, 1992). También los granos de las tétrades permanentes de las especies de *Randia*, siguen el mismo patrón ontogenético. Similar proceso se ha descrito también en otras Rubiaceae como *Mitriostigma axillare* (Hansson & El-Ghazaly, 2000) y *Gardenia jasminoides* (Yue *et al.*, 2017a) ambas con flores perfectas y con polen en tétrades permanentes.

Por lo contrario, en las FFP la diferenciación del polen se detiene en etapas tempranas: cmm en *R. sp. nov.*, en meiosis en *G. americana*, en tétrades con calosa en *C. concolor* y *R. calycina*.

En Rubiaceae, el único estudio embriológico que se conoce en flores unisexuales fue realizado en *Mussaenda pubescens* (tribu Mussaendeae, Li *et al.*, 2010). En esta especie la anatomía expuso que el aparente dimorfismo estilar enmascaraba la dioecia de la especie, el morfo longistilo (*long-styled*) presenta polen estéril (siendo entonces flores funcionalmente pistiladas), mientras que el morfo brevistilo (*short-styled*) tiene polen fértil y órganos sexuales femeninos estériles (funcionalmente estaminadas). En esta especie, como en las especies analizadas de Gardenieae, la pared de la antera es similar entre los dos tipos de flores. Se diferencia en que la diferenciación del polen en las flores pistiladas llega al estado de microsporas libres y posteriormente, el núcleo de las microsporas se

fragmenta. Tanto el presente trabajo como el realizado en *Mussaenda pubescens* (Li *et al.*, 2010) demuestran la importancia del estudio anatómico como una herramienta que ayuda a determinar la sexualidad de las especies en Rubiaceae.

En distintas Angiospermas se ha asociado el mecanismo de muerte celular programada con el aborto de órganos del sexo opuesto en las flores funcionalmente unisexuales (Coimbra *et al.*, 2004; Caporali *et al.*, 2006; Flores-Rentería *et al.*, 2013). Este proceso está regulado genéticamente (Flores-Rentería *et al.*, 2013). Son necesarios estudios de ultraestructura y técnicas como TUNEL y DAPI para confirmarla en anteras estériles de las FFP de Gardenieae.

Morfología del polen: los granos de mayor tamaño son los de *T. formosa*. La forma del polen y el tipo de exina es similar entre *C. concolor* y *G. americana* y entre las especies de *Randia*. En *R. calycina* la exina varió de psilada a foveolada lo que complementa las observaciones llevadas a cabo anteriormente por Judkevich *et al.* (2015). Las descripciones realizadas en *Genipa americana* y *Tocoyena formosa* coinciden con estudios previos (Persson, 1993; Cigolini Ruzza, 2017).

En Rubiaceae el tipo de apertura del grano de polen es un carácter de identificación y es usualmente útil para realizar inferencias filogenéticas (Dessein *et al.*, 2005). Las Gardenieae estudiadas presentaron granos 3-porados en *T. formosa* y en las especies de *Randia* y granos 3-colporados en *C. concolor* y *G. americana* (tipo que domina en Rubiaceae, Robbrecht, 1988). En *Cordia* el polen 3-colporado es una característica del género que lo distingue del género hermano *Alibertia* con granos porados (Persson & Delprete, 2010).

Oncus: en los granos de polen no acetolizados se ha observado que de cada abertura se proyecta una estructura sobresaliente de intina que incluye protoplasto denominada oncus (Hyde, 1955; Tilney & Van Wyk, 1997). Se considera que dicha estructura ha evolucionado varias veces de forma independiente dado que ha sido observada en varios taxones de Rubiaceae de diferentes tribus (incluida Gardenieae, Yue *et al.*, 2017a). Se menciona por primera vez en los géneros estudiados en este trabajo.

En *Vangueria infausta* (tribu Vanguerieae, Rubiaceae) se ha encontrado una asociación entre el oncus sobresaliente y la estructura celular de la epidermis del estigma que favorecería la presentación secundaria del polen (Tilney *et al.*, 2014). Teniendo en cuenta que las especies analizadas tienen presentación secundaria del polen (*obs. pers.*), futuros estudios de ultraestructura e histoquímica del estigma y del polen podrían revelar si existe una relación similar a la encontrada en *V. infausta*.

Unidades de dispersión del polen: se han encontrado dos tipos de unidades de dispersión: 1) mónades (*C. concolor*, *G. americana* y *T. formosa*), y 2) tétrades permanentes (especies de *Randia*).

La dispersión de polen en forma de tétrades se conoce en al menos 52 familias de Angiospermas (Copenhaver, 2005), sin embargo en Rubiaceae es poco frecuente. En esta familia se encuentra en *Gleasonia* (tribu Henriquezieae, Bremekamp, 1957; De Block & Robbrecht, 1998; Robbrecht & Manen, 2006), *Pavetta staudtii* (tribu Pavetteae, De Block & Robbrecht, 1998) y en 11 géneros de *Gardenieae* (Hallé, 1967; Robbrecht & Puff 1986; Robbrecht, 1988; Persson, 1993; Hansson & El-Ghazaly, 2000). Al menos en *Randia*, la dispersión del polen en tétrades ha sido mencionada por varios autores (Fagerlind, 1948; Brenekamp, 1957; Hallé, 1967; Persson, 1993; Gustafsson & Persson, 2002; Judkevich *et al.*, 2015) y representa un carácter constante.

Teniendo en cuenta la observación con MEB, las tétrades acetolizadas de *Randia* son ligeramente acalimadas, ya que presentan una discontinuidad moderada de la exina entre las uniones de cada mónade. Recientemente, en *Gardenia jasminoides*, la ultraestructura de las tétrades reveló que las mónades que la conforman están unidas por el entrelazamiento del tectum y la columela en las áreas de apertura, áreas sin aperturas y centro de la tétrade (Yue *et al.*, 2017a). En *Randia* serían necesarios estudios similares para conocer cuáles son los estratos de la exina que participan en la unión entre las mónades.

POLLENKITT

Se encontró en la superficie del polen obtenido de las anteras dehiscentes, es una sustancia lipídica y pigmentada (Knoll, 1930) que reaccionó de manera positiva al Sudán III. Dicha sustancia se encuentra en todas las familias de Angiospermas y es sintetizada por las células del tapete (Hesse, 1981) independientemente de que éste sea de tipo secretor o ameboide (Pacini & Hesse, 2005).

Los reportes de pollenkitt en Rubiaceae son escasos, se ha mencionado para *Hamelia patens* (tribu Hamelieae, Yue *et al.*, 2017b), *Ophiorrhiza longiflora* (tribu Ophiorrhizeae, Weber & Igersheim, 1994), *Rondeletia spp.* (tribu Rondeletieae, Igersheim, 1993b; El-Ghazaly *et al.*, 2001) y *Strumpfia maritima* (Igersheim, 1993a). Para los géneros tratados en este trabajo, es la primera vez que se menciona la presencia de pollenkitt, asociado al polen de FP y FFE. En estas especies hemos observado que el polen se aglutina por pollenkit, lo que demuestra la capacidad de adherencia de esta sustancia (Dobson &

Bergtröm, 2000; Pacini & Hesse, 2005). Además, Oliveira & Maruyama (2014) observaron en *Tocoyena formosa* que el polen se adhiere en la superficie no receptiva del estigma, en un tipo de presentación secundaria del polen, lo que creemos que podría deberse a la presencia de pollenkitt.

BIBLIOGRAFÍA

- Bittencourt Jr NS. 1996.** Microsporogênese e etapas da ontogenia do gametófito masculino de *Tabebuia ochracea* (Cham.) Standley (Bignoniaceae). *Acta Bot. Bras.* 10 (1): 9–23.
- Bittencourt Jr NS, Mariath JEA. 1997.** Ontogenia dos estratos parietais da antera de *Tabebuia pulcherrima* Sandw. (Bignoniaceae). *Acta Bot. Bras.* 11(1): 9–30.
- Brenkamp CEB. 1957.** On the position of *Platycarpum* Humb. & Bonpl., *Henriquezia* Spruce ex Bth. and *Gleasonia* Standl. *Acta Bot. Neerl.* 6: 351–357.
- Caporali E, Roccotiello E, Cornara L, Casazza G, Minuto L. 2006.** An anatomical study of floral variation in *Thymelaea hirsuta* (L.) Endl. related to sexual dimorphism. *Plant Biosyst.* 140 (2): 123–131.
- Chatin M. 1866.** The placentoid, a new organ of anthers. *Ann. Mag. nat. Hist.* 17: 395–397.
- Cigolini Ruzza DA. 2017.** Etnobotânica, biologia reprodutiva e diversidade genética em *Genipa americana* L. (Rubiaceae) visando a conservação e manejo sustentável da espécie. PhD thesis, Universidade do Estado de Mato Grosso, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Alta Floresta-MT, Brasil.
- Coimbra S, Torrao L, Abreu I. 2004.** Programmed cell death induces male sterility in *Actinidia deliciosa* female flowers. *Plant Physiol. Biochem.* 42: 537–541.
- Copenhaver GP. 2005.** A compendium of plant species producing pollen tetrads. *JNCAS* 121(1): 17–35.
- Darwin C. 1877.** The different forms of flowers on plants of the same species. Murray, London, UK.
- De Block P, Robbrecht E. 1998.** Pollen morphology of the Pavetteae (Rubiaceae, Ixoroideae) and its taxonomic significance. *Grana* 37(5): 260–275.
- Dedecca DM. 1957.** Anatomia e desenvolvimento ontogenético de *Coffea arábica* l. Var. *typica* cramer. *Bragantia, Boletim técnico do Instituto Agrônômico do Estado de São Paulo* 16(23): 315–367.

- Dessein S, Ochoterena H, De Block P, Lens F, Robbrecht E, Schols P, Smets E, Vinckier S, Huysmans S. 2005.** Palynological Characters and Their Phylogenetic Signal in Rubiaceae. *Bot. J. Rev.* 71(3): 354–414.
- Dobson HEM, Bergström G. 2000.** The ecology and evolution of pollen odors. *Plant Syst. Evol.* 222: 63–87.
- Eames, AJ. 1961.** *Morphology of the Angiosperms*. New York: McGraw-Hill.
- El-Ghazaly G, Chaudhary R. 1993.** Morphology and taxonomic application of orbicules (Ubisch bodies) in the genus *Euphorbia*. *Grana* 2: 26–32
- El-Ghazaly G, Huysmans S, Smets EF. 2001.** Pollen development of *Rondeletia odorata* (Rubiaceae). *Am. J. Bot.* 88(1): 14–30.
- Endress PK. 2011.** Evolutionary diversification of the flowers in Angiosperms. *Am. J. Bot.* 98(3): 370–396.
- Erbar C, Gülden C. 2011.** Ontogeny of the flowers in *Paulownia tomentosa* – A contribution to the recognition of the resurrected monogeneric family Paulowniaceae. *Flora* 206: 205–218.
- Erdtman, C. 1966.** Pollen morphology and plant taxonomy-Angiosperms (An introduction to palynology). Revised Edition. Haner Pub. Co., New York & London.
- Fagerlind F. 1948.** *Rosenbergiodendron gen. nov.*, eine polymorphe Rubiaceen-Gattung mit gewöhnlichem Vorkommen von Mikrosporogenesestörungen. *Svensk Botanisk Tidskrift* 42: 143–152.
- Fahn A. 1982.** Anatomía Vegetal. Edic. Pirámide S.A. Madrid. 600 pp.
- Falasca G, D'Angeli S, Biasi R, Fattorini L, Matteucci M, Canini A, Altamura MM. 2013.** Tapetum and middle layer control male fertility in *Actinidia deliciosa*. *Ann. Bot.* 112: 1045–1055.
- Ferreira Junior M, Santos Vieira AO. 2015.** Espécies arbóreo-arbustivas da família Rubiaceae Juss. na bacia do rio Tibagi, PR, Brasil. *Hoehnea* 42(2): 289–336.
- Flores-Rentería L, Orozco-Arroyo G, Cruz-García F, García-Campusano F, Alfaro I, Vázquez-Santana S. 2013.** Programmed cell death promotes male sterility in the functional dioecious *Opuntia stenopetala* (Cactaceae). *Ann. Bot.* 112: 789–800.
- Galati BG. 1988.** Estudios embriológicos en la tribu Spermaceae (Rubiaceae). PhD thesis, Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- Galati BG. 1991.** Estudios embriológicos en la tribu Spermaceae (Rubiaceae). Parte I: Anatomía floral. Microsporogénesis. Megasporogénesis. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 27(1–2): 7–20.

- Galati BG & LI Strittmatter. 1999.** Microsporogenesis and microgametogenesis in *Jacaranda mimosifolia* (Bignoniaceae). *Phytomorphology* 49: 147–155.
- Galati BG. 2003.** Ubisch bodies in Angiosperms. In 'Advances in plant reproductive biology. Vol. II. (Eds AK Pandey, MR Dhakal) pp. 1–21. Narendra Publishing House: Delhi.
- Govaerts R, Ruhsam M, Andersson L, Robbrecht E, Bridson DM, Davis AP, Schanzer I, Sonké B. 2011.** World checklist of Rubiaceae. Royal Botanic Gardens, Kew. In: <http://www.kew.org/wcsp/rubiaceae>.
- Gustafsson C, Persson C. 2002.** Phylogenetic relationships among species of the Neotropical Genus *Randia* (Rubiaceae, Gardenieae) inferred from molecular and morphological data. *Taxon* 51: 661–674.
- Hallé F. 1967.** Étude biologique et morphologique de la tribu des Gardénieés (Rubiaceae). *Mém. O.R.S.T.O.M.*, 22: 1–146.
- Hansson T, El-Ghazaly G. 2000.** Development and cytochemistry of pollen and tapetum in *Mitriostigma axillare* (Rubiaceae). *Grana* 39: 65–89.
- Hesse M. 1981.** Pollenkitt and viscin threads: their role in cementing pollen grains. *Grana* 20:(3) 145–152.
- Huysmans S. 1998.** Orbicules in Angiosperms: Morphology, Function, Distribution, and Relation with Tapetum Types. *Bot. Rev.* 65(3): 240–272.
- Huysmans S, G El-Ohezaly, S Nilsson, Smets E. 1997.** Systematic value of tapetal orbicules: a preliminary survey of the Cinchonoideae (Rubiaceae). *Can. J. Bot.* 75: 815–826.
- Huysmans S, Robbrecht E, Delprete P, Smets E. 1999.** Pollen morphological support for the Catesbaeeae-Chiococceae- Exostema-complex (Rubiaceae). *Grana* 38: 325–338.
- Hyde HA. 1955.** Oncus, a new term in pollen morphology. *New Phytol.* 54: 255–256.
- Igersheim A. 1993a.** The character states of the Caribbean monotypic endemic *Strumpfia* (Rubiaceae). *Nordic J. Bot.* 13: 545–559.
- Igersheim A. 1993b.** The palynology of the genus *Rondeletia* L. (Rubiaceae Cinchonoideae-Rondeletieae). *Grana* 32: 321–326.
- Johri BM, Ambegaokar K, Srivastava PS. 1992.** Comparative embryology of Angiosperms. Vol 1-2. Springer-Verlag, Berlin, pp. 1221.
- Johansen DA. 1940.** Plant microtechnique. New York: McGraw-Hill
- Judkevich MD, Salas RM, Gonzalez AM. 2015.** Revisión de *Randia* (Rubiaceae) en Argentina, taxonomía y morfoanatomía. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 50 (4): 607–625.

- Keijzer CJ, Hoek HIS, Willemse MTM. 1987.** The processes of anther dehiscence and pollen dispersal III. The dehydration of the filament tip and the anther in three monocotyledonous species. *New Phytol.* 106: 281–287.
- Kenda G. 1952.** Stomata an Antheren. I. Anatomischer Teil. *Phyton*, Horn, 4: 83-96.
- Knoll F. 1930.** Über Pollenkitt und Bestäubungsart. *Zeitschrift für Botanik* 23: 610–675.
- Li AM, Wu XQ, Zhang DX, Barrett SCH. 2010.** Cryptic dioecy in *Mussaenda pubescens* (Rubiaceae): a species with stigma-height dimorphism. *Ann. Bot.* 106: 521–531.
- Magalhães Souza M, Martins ER, Santana Pereira TN, Orlando de Oliveira L. 2008.** Reproductive Studies in *Ipecac* (*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes; Rubiaceae): Pollen Development and Morphology. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 51 (5): 981–989.
- Mariath JEA, Vanzela ALL, Kaltchuk-Santos E, De Toni KLG, Andrade CGTJ, Silvério A, Duarte-Silva E, Da Silva CRM, San Martin JAB, Nogueira F, Mendes SP. 2012.** Embryology of flowering plants applied to cytogenetic studies on meiosis- molecular mechanisms and cytogenetic diversity, Dr. Andrew Swan (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/31885. Available from: <https://www.intechopen.com/books/meiosis-molecular-mechanisms-and-cytogenetic-diversity/embryology-of-flowering-plants-applied-to-cytogenetic-studies-on-meiosis>
- Mayer SS, Charlesworth D. 1991.** Cryptic dioecy in flowering plants. *Trends Ecol. Evol.* 6: 320– 325.
- Mitchell CH & Diggle PK. 2005.** Evolution of unisexual flowers: morphological and functional convergence results from diverse developmental transitions. *Am. J. Bot.* 92: 1068–1076.
- Mouly A, Kainulainen K, Persson C, Davis AP, Wong KM, Razafimandimbison SG, Bremer B. 2014.** Phylogenetic structure and clade circumscriptions in the *Gardenieae* complex (Rubiaceae). *Taxon* 63 (4): 801–818.
- Oliveira PE, Maruyama PK. 2014.** Sistemas reprodutivos. En: AR Rech, K Agostini, PE Oliveira & IC Machado (eds.) *Biologia da polinização*. 1ª edição. Rio de Janeiro, Brasil. 527 p.
- Pacini E, Hesse M. 2005.** Pollenkitt – its composition, forms and functions. *Flora* 200: 399–415.
- Pandey AK. 1997.** Introduction to Embriology of Angiosperms. New Dehli: CBS Publishers. 224 pp.

- Passarelli ML, Cocucci AA. 2006.** Morphological and functional aspects of anthers from species of *Solanum* sect. *Cyphomandropsis*. *Phytomorphology* 56: 1–8.
- Persson C. 1993.** Pollen morphology of the Gardenieae-Gardeniinae (Rubiaceae). *Nordic J. Bot.* 13: 561–582.
- Persson C, Delprete PG. 2010.** *Cordia longicaudata* sp. nov. and *Duroia valesca* sp. nov. of the *Alibertia* group (Gardenieae-Rubiaceae). *Nordic J. Bot.* 28: 523–527.
- Punt W, Hoen PP, Blackmore S, Nilsson S, Le Thomas A. 2007.** Glossary of pollen and spore terminology. *Rev Palaeobot. Palynol.* 143: 1–81.
- Qu Y, Yu H, Zhou XL, Xie YF, Chen XQ. 2010.** A study of microsporogenesis and male gametogenesis in *Psammosilene tunicoides* (Caryophyllaceae). *Ann. Bot. Fenn.* 47: 175–189.
- Rezanejad F. 2013.** The response of anther and pollen development, pollen cellular material release and pollen proteins to air pollution in *Petunia hybrida* Juss. (Solanaceae). *Iran J. Sci. Technol.* 63–68.
- Robbrecht E. 1988.** Tropical woody Rubiaceae. *Opera Bot. Belg.* 1: 1–271.
- Robbrecht, E, Puff C. 1986.** A survey of the Gardenieae and related tribes (Rubiaceae). *Botanische Jahrbücher für Systematik* 108: 63–137.
- Robbrecht E, Manen JF. 2006.** The major evolutionary lineages of the coffee family (Rubiaceae, angiosperms). Combined analysis (nDNA and cpDNA) to infer the position of *Coptosapelta* and *Luculia*, and supertree construction based on rbcL, rps16, trnL-trnF and atpB-rbcL data. A new classification in two subfamilies, Cinchonoideae and Rubioideae. *SGP* 76: 85–146.
- Romero MF, Salas R, Gonzalez AM. 2017.** Pollen development and orbicule and pollen grain morphology in species of *Cephalanthus* (Rubiaceae-Naucleeae) from the Americas. *Austral. J. Bot.* 65: 233–247.
- Schmid RFLS. 1976.** Filament histology and anther dehiscence. *Bot. J. Linn. Soc.* 73: 303–315.
- Tilney PM, Van Wyk AE. 1997.** Pollen morphology of *Canthium*, *Keetia* and *Psydrax* (Rubiaceae: Vanguerieae) in southern Africa. *Grana* 36: 249–260.
- Tilney PM, Van Wyk AE, Van der Merwe CF. 2014.** The epidermal cell structure of the secondary pollen presenter in *Vangueria infausta* (Rubiaceae: Vanguerieae) suggests a functional association with protruding onci in pollen grains. *PLoS ONE* 9(5): e96405.

- Tütüncü Konyar S, Dane F. 2013.** Anther ontogeny in *Campsis radicans* (L.) Seem. (Bignoniaceae). *Pl. Syst. Evol.* 299: 567–583.
- Verellen JEF, Desein S, Razafimandimbison AG, Smets E, Huysmans S. 2007.** Pollen morphology of the tribes Naucleaeae and Hymenodictyeae (Rubiaceae – Cinchonoideae) and its phylogenetic significance. *Bot. J. Linn. Soc.* 153: 329–341.
- Verstrate B, Groeninckx I, Smets E, Huysmans S. 2011.** Phylogenetic signal of orbicules at family level: Rubiaceae as case study. *Taxon* 60: 742–757.
- Vinckier S, Huysmans S, Smets E. 2000.** Morphology and ultrastructure of orbicules in the subfamily Ixoroideae (Rubiaceae). *Rev Palaeobot Palynol.* 108: 151–174.
- Vinckier S, Smets E. 2002.** Morphological and Ultrastructural Diversity of Orbicules in Relation to Evolutionary Tendencies in Apocynaceae s.l. *Annals of Botany* 90: 647–662.
- Vinckier S, Smets E. 2005.** A histological study of microsporogenesis in *Tarenna gracilipes* (Rubiaceae). *Grana* 44: 30–44.
- Weber M, Igersheim A. 1994.** “Pollen Buds” in *Ophiorrhiza* (Rubiaceae) and their Role in Pollenkitt Release. *Botanica Acta*, 107: 257–262.
- Wilson ZA, Song J, Taylor B, Yang C. 2011.** The final split: the regulation of anther dehiscence. *J. Exp. Bot.* 62: 1633–1649.
- Yankova E, Yurukova P. 2010.** Embryological study of *Gentiana cruciata* L. (Gentianaceae) from Bulgaria. *JABS* 4: 19–23.
- Yankova-Tsvetkova E, Yurukova-Grancharova P. 2009.** Embryological study of Bulgarian populations of *Gentiana lutea* (Gentianaceae). *Flora Mediterranea* 19: 189–198.
- Yue L, Kuang Y, Liao J. 2017ba.** Ontogeny of permanent tetrads in *Gardenia jasminoides* (Rubiaceae) provides insight into pollen evolution. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 247: 120–132.
- Yue L, Twell D, Kuang Y, Liao J, Zhou X. 2017b.** Transcriptome analysis of *Hamelia patens* (Rubiaceae) anthers reveals candidate genes for tapetum and pollen wall development. *Front. Plant Sci.* 7: 1–20.
- Zappi DC, Semir J, Pierozzi NI. 1995.** *Genipa infundibuliformis* sp. nov. and notes on *Genipa americana* (Rubiaceae). *Kew Bulletin* 50: 761–771.

Capítulo III: Gineceo. Anatomía de estilo, estigma y ovario.

Tipo de placentación. Óvulos.

Megasporogénesis y megagametogénesis

INTRODUCCIÓN

El gineceo de las Rubiáceas presenta características constantes a lo largo de la familia. La condición ínfera y bicarpelar del ovario es una característica muy importante para reconocer a las especies pertenecientes a dicha familia. Por otra parte, el estilo generalmente es único, linear, glabro o variadamente pubescente. El estigma presenta los lóbulos estigmáticos que coinciden en número con los carpelos y frecuentemente es exerto, pero en muchas especies de la tribu *Gardenieae* está al nivel de la garganta de la corola. Además, la superficie del estigma puede presentar pliegues, crestas o pelos que cumplen un rol en la presentación secundaria del polen (Robbrecht, 1988).

En cuanto al tipo de placentación, en la familia la más frecuente es axilar, excepto en muchos géneros de *Gardenieae* y algunos *Hypobathreae* (Robbrecht, 1988). Hallé (1967) reconoce en la tribu *Gardenieae* tres tipos de placentación:

1) parietal típica, común en las especies de *Gardenia*, *Oxyanthus* y *Duroia*;

2) axilar típica, en la que la diferenciación de los óvulos se da cuando la proliferación de la placenta es completa y los óvulos son superficiales a la placenta, este tipo de placentación es frecuente en varios géneros entre los cuales se encuentran *Leptactina*, *Dictyandra*, *Genipa*, *Hillia*, *Bertiera*, *Posoqueria* y *Catesbaea*; y

3) placentación difusa (exclusiva de la tribu *Gardenieae*), es una variante de la placentación axilar, la proliferación de la placenta es continua y se da a la par de la diferenciación de los óvulos, por lo que los óvulos quedan sumergidos en la placenta. Este último tipo de placentación se conoce en especies de los géneros *Euclina* y de *Rothmannia*, y en *Aidia genipaeiflora*, *Macrosphyra longistyla*, *Polycorine fernandesis*, *Randia ruiziana*, *Sherbournia* sp. y *Tocoyena guianensis*.

Además, en la familia, la inserción de las placentas axilares es variable, se pueden insertar enteramente a lo largo del septo o solo en una parte: en el ápice, en la región media o en la base del septo (Robbrecht, 1988).

En Rubiaceae el número de óvulos en cada placenta difiere de uno a numerosos (Robbrecht, 1988). Para Angiospermas en general, la estructura de los óvulos está determinada por tres características principales: la curvatura del óvulo, el espesor de la nucela y el número de tegumentos (Endress, 1994). En Rubiaceae, los primeros autores en realizar estudios embriológicos fueron Schleiden (1837), quién describió óvulos anátropos y sin tegumentos; Loyd (1899) detalló la presencia de un solo tegumento y Fagerlind (1937) quien realizó el trabajo más amplio para la familia, propuso una clasificación de los óvulos mencionando seis tipos de óvulos, para lo cual tuvo en cuenta el número de células arqueosporiales y la forma de la epidermis nucelar, además propone una tendencia evolutiva. Trabajos posteriores ampliaron el número de tipos de óvulos a 11 (Galati, 1991; Mariath & Cocucci, 1997; De Toni & Mariath 2008, 2010; Figueiredo *et al.*, 2017b). En los últimos años se han realizado nuevos estudios relacionados al rudimento seminal en diferentes tribus de la familia Rubiaceae (De Toni & Mariath, 2004, 2008, 2010; Li *et al.*, 2010; Figueiredo *et al.*, 2013; Nuñez *et al.*, 2016; Figueiredo *et al.*, 2017a,b). Sin embargo, De Toni & Mariath (2008) resaltan que los conocimientos de la diferenciación del óvulo en Rubiaceae son fragmentarios y solo hay datos en algunos géneros aislados.

En *Gardenieae* en particular, Hallé (1967) describió a los óvulos como anátropos con un único tegumento; sin embargo, no se conocen estudios recientes en especies de dicha tribu y menos teniendo en cuenta la sexualidad de las flores. Hasta el momento, el único trabajo en Rubiaceae en el que se describe la diferenciación del megagametofito en una especie con dioecia críptica es en *Mussaenda pubescens* (Li *et al.*, 2010).

OBJETIVOS QUE SE PROPONEN EN ESTE CAPÍTULO:

- 1) Describir la anatomía de las piezas del gineceo (estilo, estigma y ovario) en flores con diferente sexualidad para establecer si existen diferencias.
- 2) Caracterizar el tipo de placentación en las especies analizadas de *Gardenieae*.
- 3) Describir la megasporogénesis y megagametogénesis en las especies analizadas y determinar el tipo de óvulo.

RESULTADOS

En todas las especies el ovario es ínfero (Figs. 2 A, E; 3 A, D, G, J; 4 A, C, F, H; 5 A, C, G, J; 6 A, C-D, H, J). En las FP y FFP es bicarperlar, bilocular, con placentación axilar y numerosos óvulos por lóculo, mientras que en las FFE el ovario está poco desarrollado y no hay formación de óvulos.

Se detalla a continuación la anatomía de las diferentes partes del gineceo de manera comparativa entre las especies y entre los tipos florales.

ANATOMÍA DEL ESTILO Y DEL ESTIGMA

Estilo: es macizo en todas las especies (Fig. 26 A, D, H-I, K-L). Las paredes tangenciales externas de las células epidérmicas están ligeramente engrosadas (Fig. 26 C, J, M), excepto en *C. concolor* (Fig. F-G). Éstas células son cuadrangulares en *T. formosa* y *G. americana*, poligonales en *C. concolor* y ovoideas en las especies de *Randia*. Solo en las FFE de *C. concolor*, el estilo puede presentar tricomas simples, unicelulares y lignificados, distribuidos aleatoriamente (Fig. 26 G).

El parénquima presenta células de contorno poligonal y circular en todas las especies. En *G. americana* hay células colenquimáticas (Fig. 26 M) debajo de la epidermis. Se observaron drusas solo en *C. concolor*. Se encontraron taninos distribuidos en todo el parénquima de ambos tipos de flores de *C. concolor* (Fig. 26 D-G), mientras que se encuentran rodeando a los haces vasculares de *T. formosa* (Fig. 26 B) y de las FFE de *G. americana* (Fig. 26 I).

En el centro del estilo de las FP y FFP se distingue el tejido de transmisión macizo formado por células más pequeñas con citoplasma denso (Figs 26 A, D-E, H-I, K-L; 27 G; 28 F-G; 29 G). Dicho tejido recorre todo el estilo y se continúa en las ramas estigmáticas donde se diferencia en la epidermis interna (Figs. 27, 28). En las FFE este tejido está reducido a su mínima expresión (Fig. 29). En todas las flores hay dos haces vasculares colaterales que recorren todo el estilo terminando en la base de las ramas estigmáticas, en las FP y FFP los haces acompañan el tejido de transmisión en su recorrido.

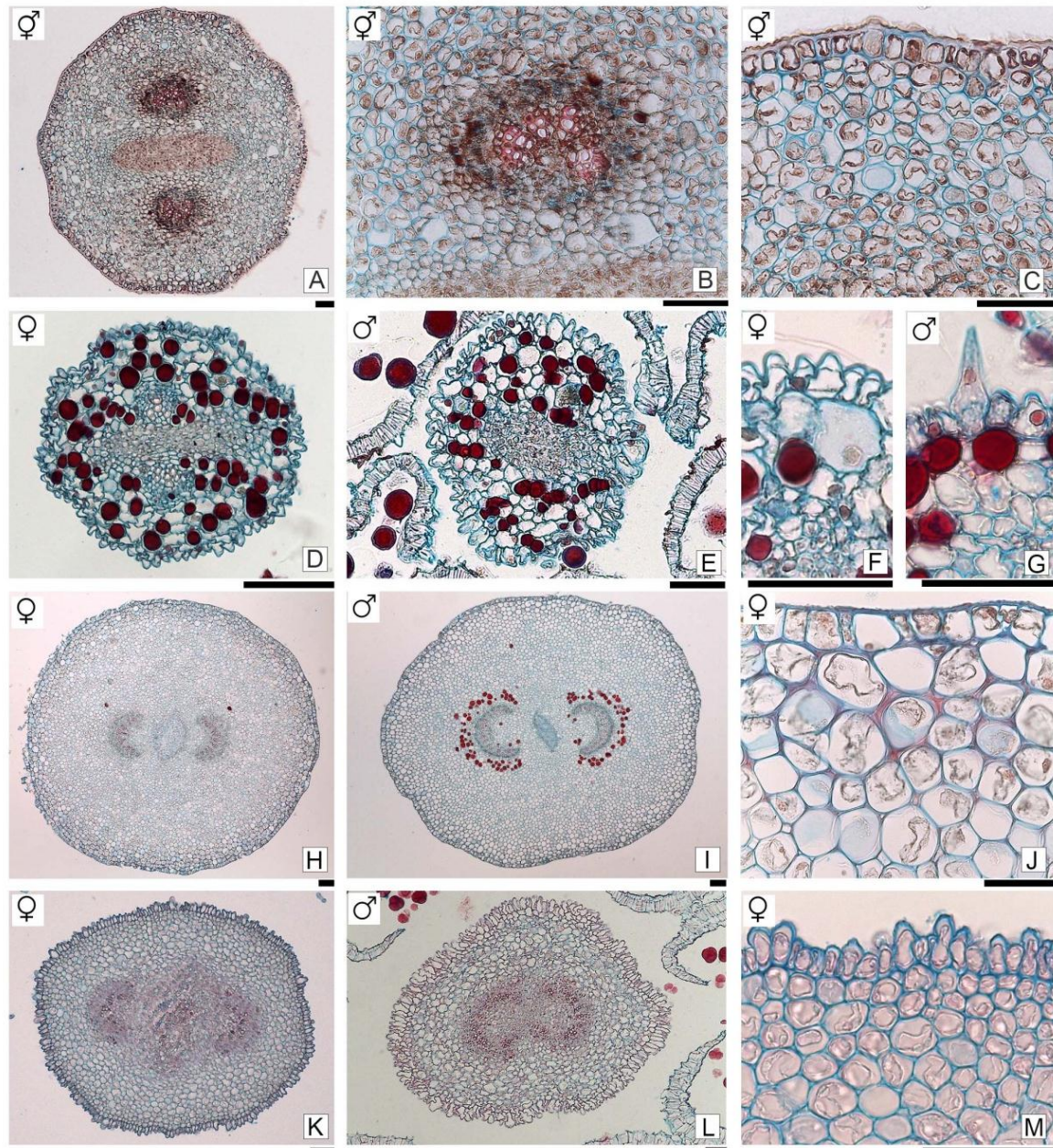


FIGURA 26. TRANSCORTE DE ESTILOS. A-C. *T. formosa*. D-G. *C. concolor*. H-J. *G. americana*. K-M. *R. sp. nov.* A, D-E, H-I, K-L. Corte de la zona media del estilo. B. Detalle de un haz vascular. C, F-G, J, M. Detalle de la epidermis, note en G el tricoma unicelular. Escalas: 50 μ m.

Estigma: presenta diferencias entre las especies analizadas y los tipos de flores. Morfológicamente todos presentan dos ramas estigmáticas que están en estrecho contacto en la base y región media, y libres hacia el ápice (Fig. 30 A, E, G, I, K, M, O, Q, S). Solo en *T. formosa* estas ramas llegan a desplegarse en su totalidad en la antesis (Fig. 30 A), quedando juntas en las restantes especies. El estigma es de tipo seco, únicamente en *Randia spp.* el estigma es húmedo.

La superficie externa del estigma presenta depresiones producidas por la presión que ejercen las anteras durante la diferenciación del botón floral (Fig. 30 A-B, I-K). Estas depresiones son muy notorias en las FP y en las FFE y cumplen un rol en la presentación secundaria del polen (ver capítulo IV).

En cada rama estigmática las superficies externa e interna presentan diferencias en cuanto a la morfología de la epidermis. Solo en las FFE de *C. concolor* ambas epidermis son similares.

Superficie externa: con MEB se observó que en vista superficial las células epidérmicas presentan contorno poligonal en *T. formosa* (Fig. 30 B, D), en las FFE de *Randia spp.* (Fig. 30 P, T) y en las FFP de *R. sp. nov.* (Fig. 30 R), mientras que tienen contorno rectangular en *C. concolor* (Fig. 30 F-H), *G. americana* (Fig. 30 J-L) y en las FFP de *R. calycina* (Fig. 30 N). En transcorte, las células epidérmicas son ovoideas y con la pared tangencial ondulada (Fig. 31 A-B, D, F, G-H, J-K, M-N, P-Q). Hay estomas en *T. formosa* (Fig. 31 B), *G. americana* (Fig. 31 H, K) y en las FFE de *Randia spp.* (Fig. 30 P, T).

Superficie interna: con MEB se observó que en vista superficial las células presentan contorno circular (Fig. 30 C-D, F, J, L, N, R). En transcorte, las células de las FP, FFP de todas las especies y FFE de *G. americana* son digitiformes, con las paredes onduladas (Fig. 31 A, C, D-E, G, I, J, L, M, O). Solo en las FFE de *C. concolor* son similares a las de la superficie externa pero de menor tamaño (Fig. 31 F). En las FFE de *Randia spp.* son rectangulares y de menor tamaño que las células del parénquima (Fig. 31 P).

En corte transversal el parénquima del estigma es compacto y presenta drusas (Fig. 31 D-G, J, M, P), solo en *T. formosa* presenta espacios lagunares (Fig. 27 B-E; 31 A). En cada rama estigmática hay un haz vascular colateral (Fig. 31 A, D, G, J, M, P). Hay taninos distribuidos en todo el parénquima de *C. concolor* (Fig. 31 D-F), mientras que están restringidos a los haces vasculares en *T. formosa*, *R. calycina* y FFE de *G. americana* (Fig. 31 J).

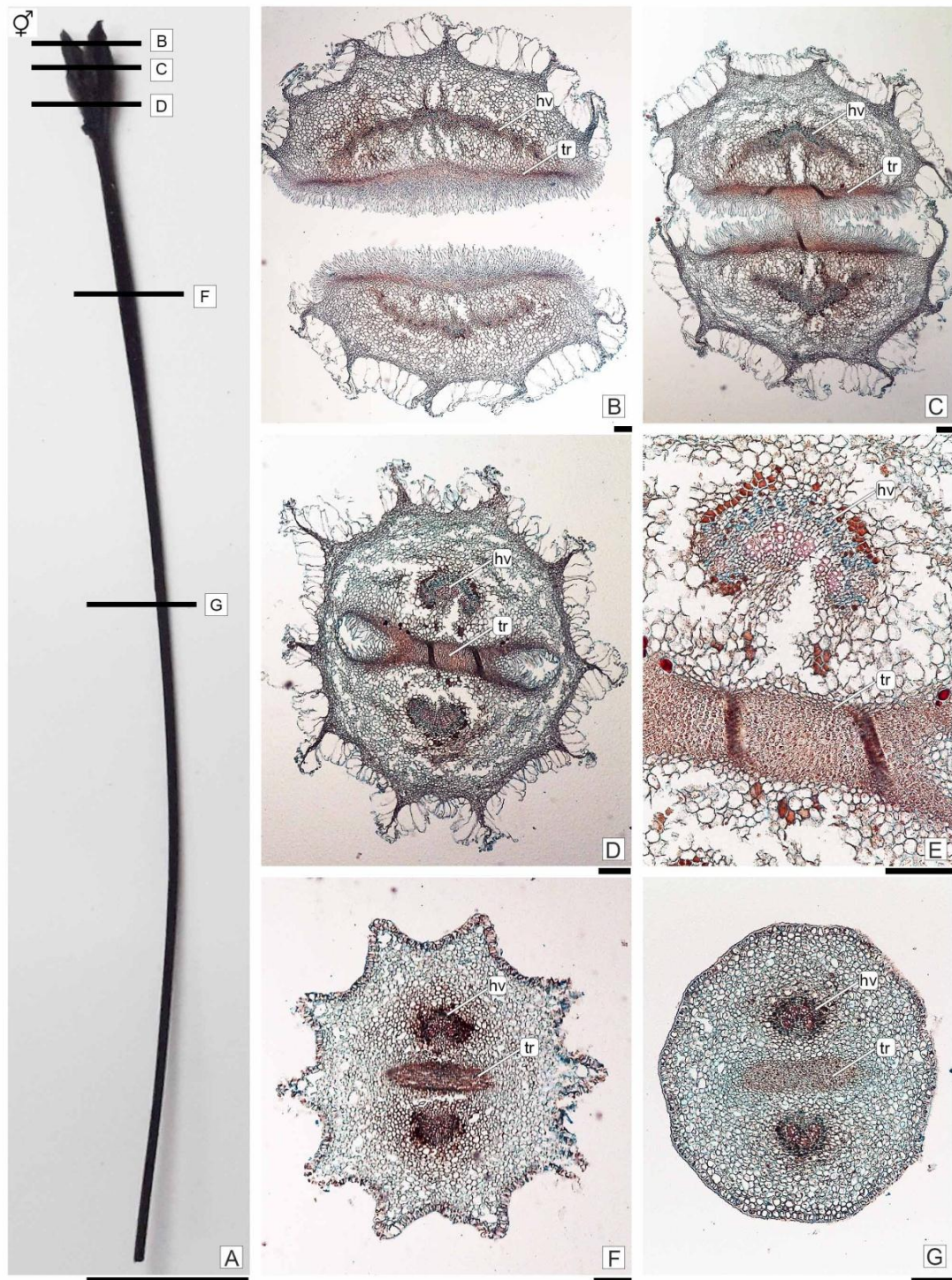


FIGURA 27. RECORRIDO DEL TEJIDO DE TRANSMISIÓN EN EL ESTILO Y ESTIGMA DE *T. FORMOSA*. A. Vista superficial del estilo y estigma. B-D, F-G. Transcorte a las alturas señaladas en A. E. Detalle del tejido de transmisión. Referencias: hv= haz vascular; tr= tejido de transmisión. Escalas: A= 1 cm; B-G= 50 μ m.

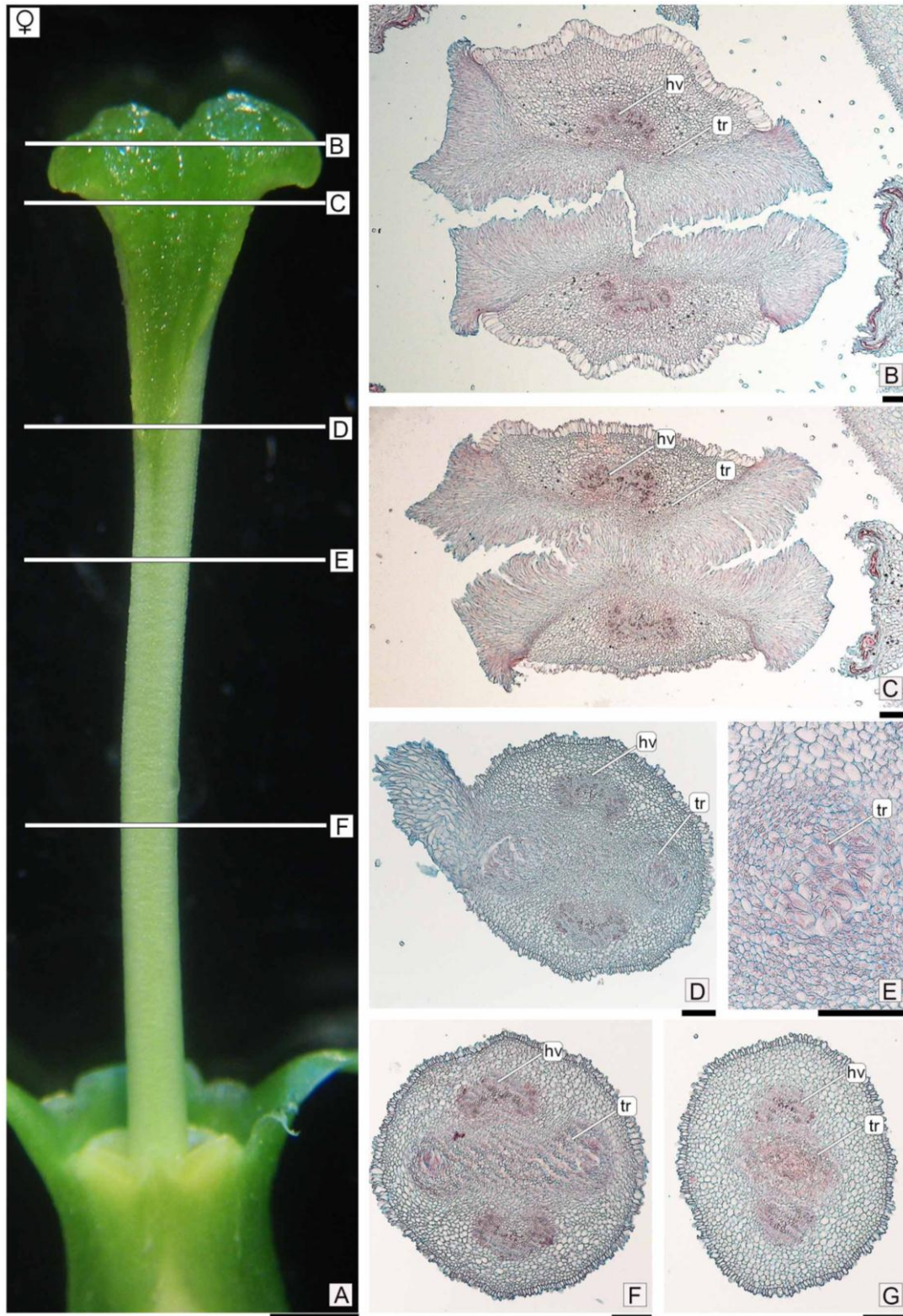


FIGURA 28. RECORRIDO DEL TEJIDO DE TRANSMISIÓN EN EL ESTILO Y ESTIGMA DE LA FFP DE *R. SP. NOV.* A. Vista superficial del estilo y estigma. B-D, F-G. Transcorte a las alturas señaladas en A. E. Detalle del tejido de transmisión. **Referencias:** hv= haz vascular; tr= tejido de transmisión. **Escalas:** A= 1 mm; B-G= 50 μ m.

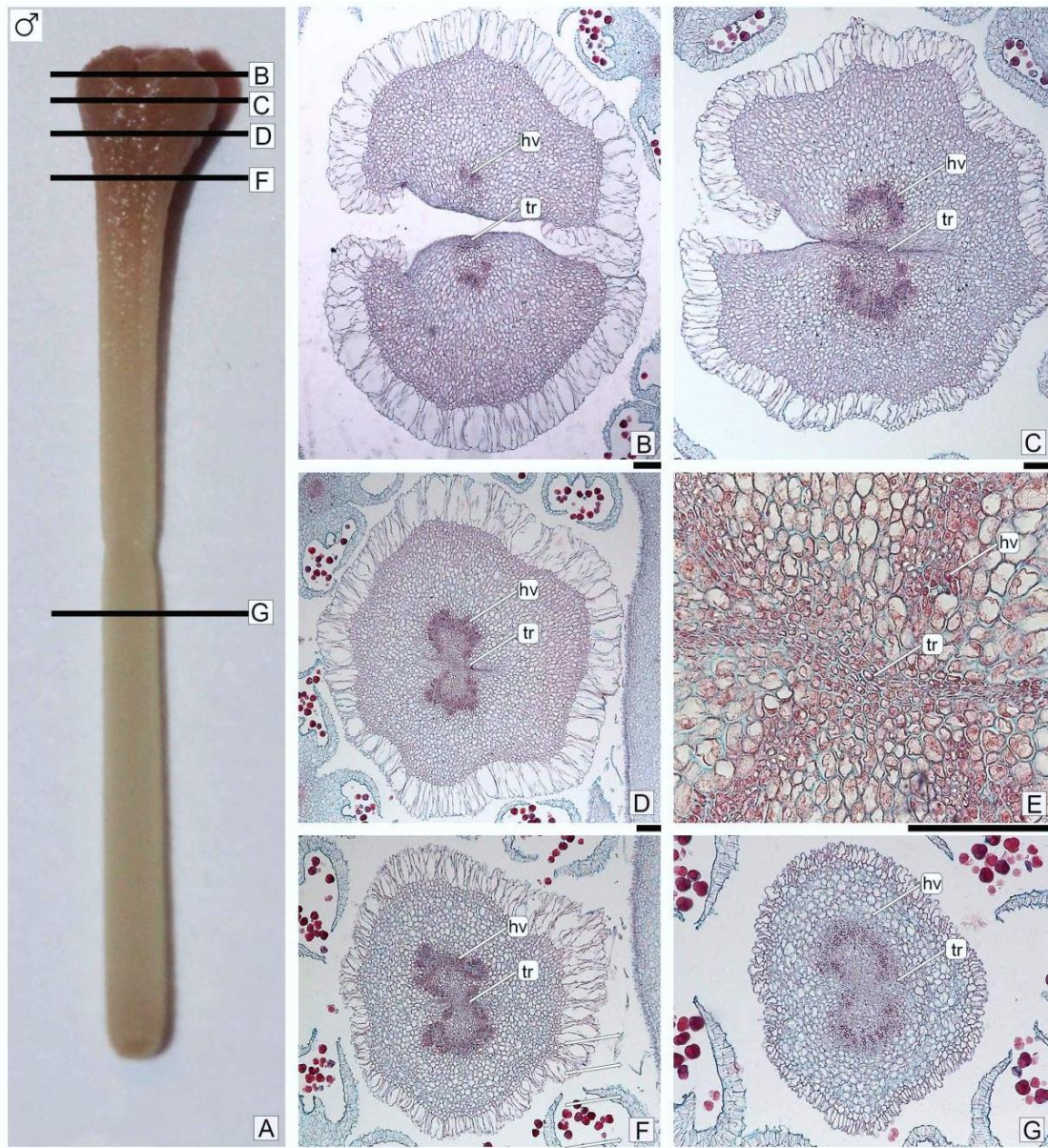


FIGURA 29. RECORRIDO DEL TEJIDO DE TRANSMISIÓN EN EL ESTILO Y ESTIGMA DE LA FFE DE *R. SP. NOV.* A. Vista superficial del estilo y estigma. B-D, F-G. Transcorte a las alturas señaladas en A. E. Detalle del tejido de transmisión. **Referencias:** hv= haz vascular; tr= tejido de transmisión. **Escalas:** A= 1 mm; B-G= 50 μ m.

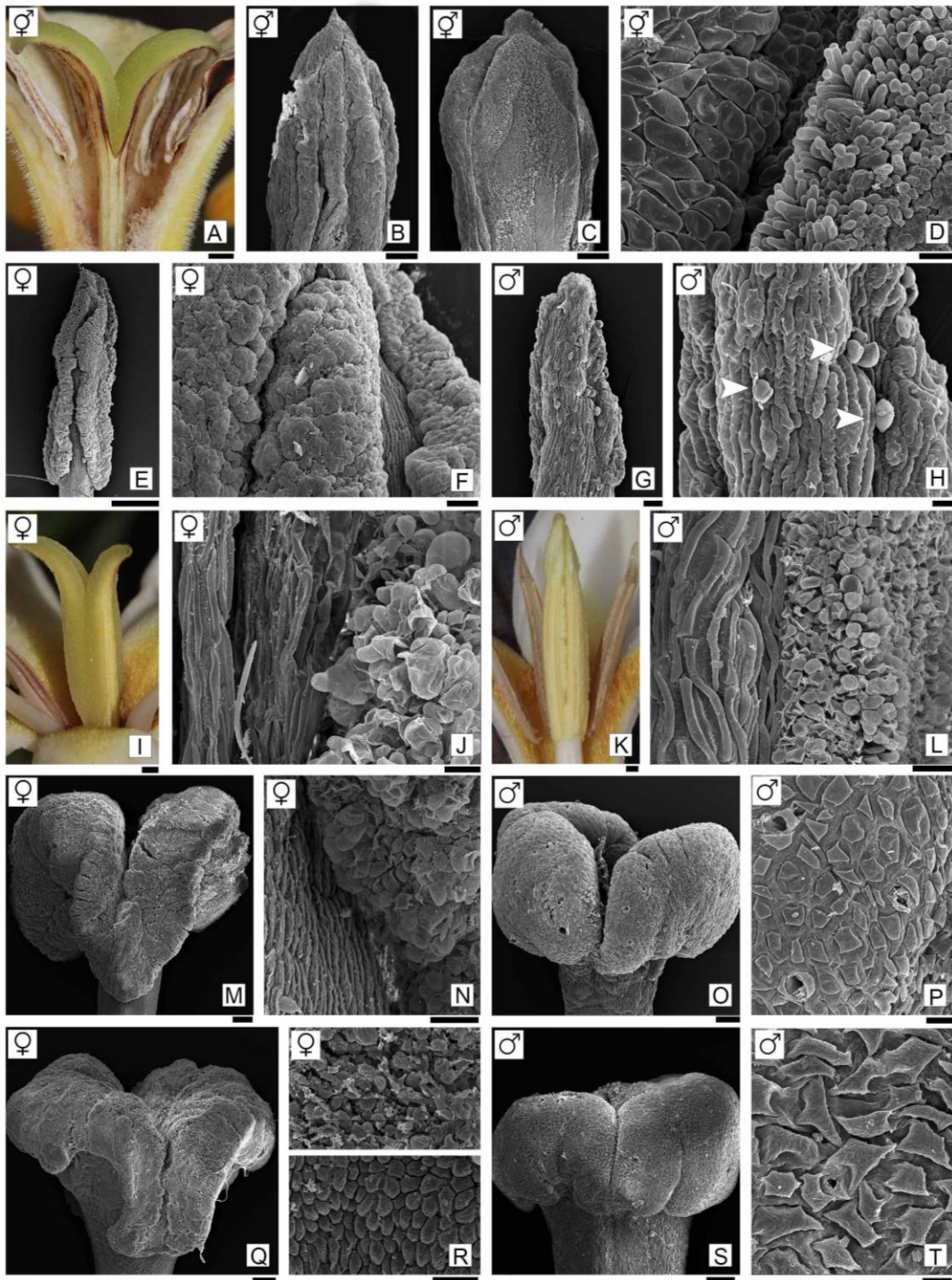


FIGURA 30. MORFOLOGÍA DEL ESTIGMA. A-D. *T. formosa*. E-H. *C. concolor*. I-L. *G. americana*. M-P. *R. calycina*. Q-T. *R. sp. nov.* A, E, G, I, K, M, O, Q, S. Vista general del estigma. B. cara externa de un lóbulo estigmático. C. Cara interna de un lóbulo estigmático. D. Cara interna de superficie lisa (izquierda) y cara externa papilosa (derecha) del estigma. F. Cara interna papilosa del estigma. H. Superficie externa de la FFE sin papilas, note los granos de polen adheridos (puntas de flechas blancas). J, L, N, R. Superficie externa e interna del estigma, izquierda y derecha respectivamente en J, L y N, abajo y arriba en R. P, T. Detalle de la superficie externa del estigma de *Randia sp. nov.* con estomas. Escalas: A, I, K= 1 mm; B, C, E= 500 μ m; D, F-G, J, N, P, R, T= 50 μ m; H= 20 μ m; L= 5 μ m; M, O, Q, S= 200 μ m.

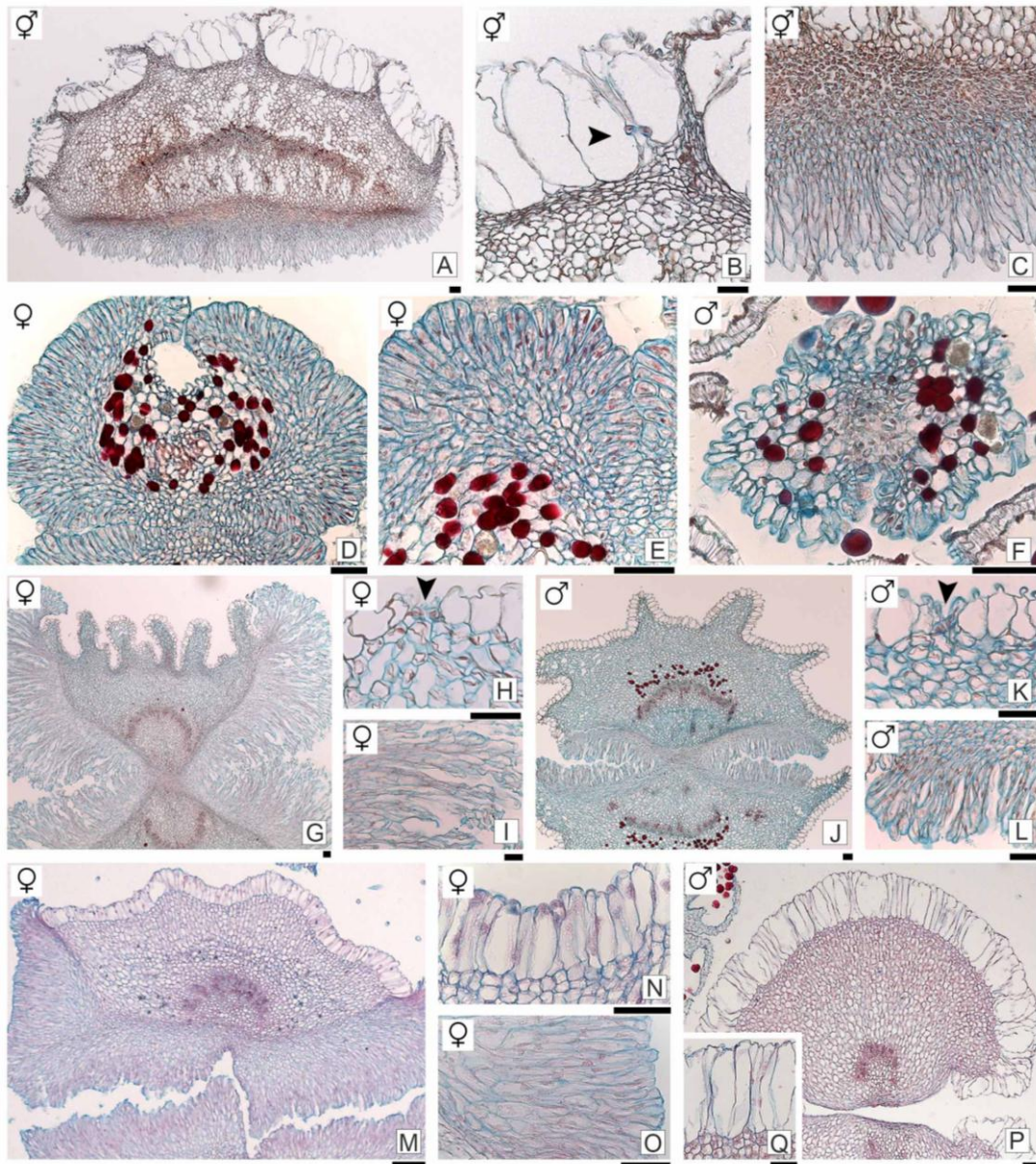


FIGURA 31. TRANSCORTE DE ESTIGMAS. A-C. *T. formosa*. D-F. *C. concolor*. G-L. *G. americana*. M-P. *R. sp. nov.* A, D, G, J, M, P. Transcorte de una rama estigmática. F. Transcorte del estigma completo. B, E, H, K, N, Q. Detalle de la epidermis de la superficie externa del estigma. C, I, L, O. Detalle de la epidermis de la superficie interna del estigma. Punta de flecha negra señala estomas. Escalas: 50 μ m.

Por la continuidad existente entre el tejido de transmisión en el estilo hacia la epidermis de la cara interna de las ramas estigmáticas se infiere que esta es la superficie receptiva del estigma. Las pruebas de receptividad estigmática realizadas con peróxido de hidrógeno no fueron concluyentes en corroborar si las caras externas e internas de los lóbulos del estigma son receptivas, ya que dado en fenómeno de presentación secundaria del polen (detalles en capítulo IV) los granos de polen adheridos a la cara externa del estigma reaccionan positivamente al H_2O_2 , del mismo modo que la cara interna.

ANATOMÍA DEL OVARIO

En las especies analizadas, el ovario es ínfero y se encuentra rodeado por los restantes antófilos soldados en un tubo floral. Las descripciones se realizaron en cortes transversales.

Epidermis externa: corresponde a la capa exterior del tubo floral. Presenta células de contorno cuadrangular a rectangular (Fig. 32 A-C, J, L, M-N, P-R, T). Hay estomas que se encuentran más elevados que las células que los rodean (Fig. 32 J, R). Hay tricomas simples, pluricelulares, uniseriados y lignificados en *T. formosa*, y unicelulares y lignificados en *C. concolor*, *G. americana* y *R. calycina*.

Epidermis interna: las células son de menor tamaño que las de la epidermis externa, presentan contorno rectangular (Fig. 32 D-G, L, O, S).

Mesofilo: estrictamente corresponde a la pared del ovario ínfero más los tejidos extracarpelares o tubo floral, sin distinción histológica de dichas áreas. En el corte transversal de *T. formosa* se distinguen tres zonas (Fig. 32 A-B, D), una externa caracterizada por presentar células de contorno poligonal con paredes lignificadas, una zona media con células poligonales, espacios intercelulares y la presencia de numerosos haces vasculares, y una zona interna formada por 6-7 estratos de células rectangulares dispuestas periclinalmente alrededor de los lóculos, carente de hacecillos.

En el resto de las especies el mesofilo es compacto sin espacios intercelulares. Se distinguen dos zonas (Fig. 32 E-I, K, M-T), una externa vascularizada, que ocupa prácticamente todo el espesor del mesófilo y está formada por células poligonales; y una zona interna formada por 2-3 estratos de células alargadas dispuestas tangencialmente en el transcorte, esta zona no tiene haces vasculares.

En *C. concolor* el mesofilo presenta abundantes taninos distribuidos aleatoriamente (Fig. 32 E-H), en las FFP también se encuentran localizados bajo la epidermis. Además, se observaron drusas y taninos en *T. formosa* y *G. americana*, y solamente drusas en *R. sp. nov.*

En todas las especies hay varios ciclos de haces vasculares colaterales con abundantes ramificaciones. Los haces externos corresponden al tubo floral y los haces internos corresponden a los carpelos, sin embargo, se requiere un detallado estudio de la vascularización floral para identificar correctamente a qué antófilo corresponde cada hacecillo.

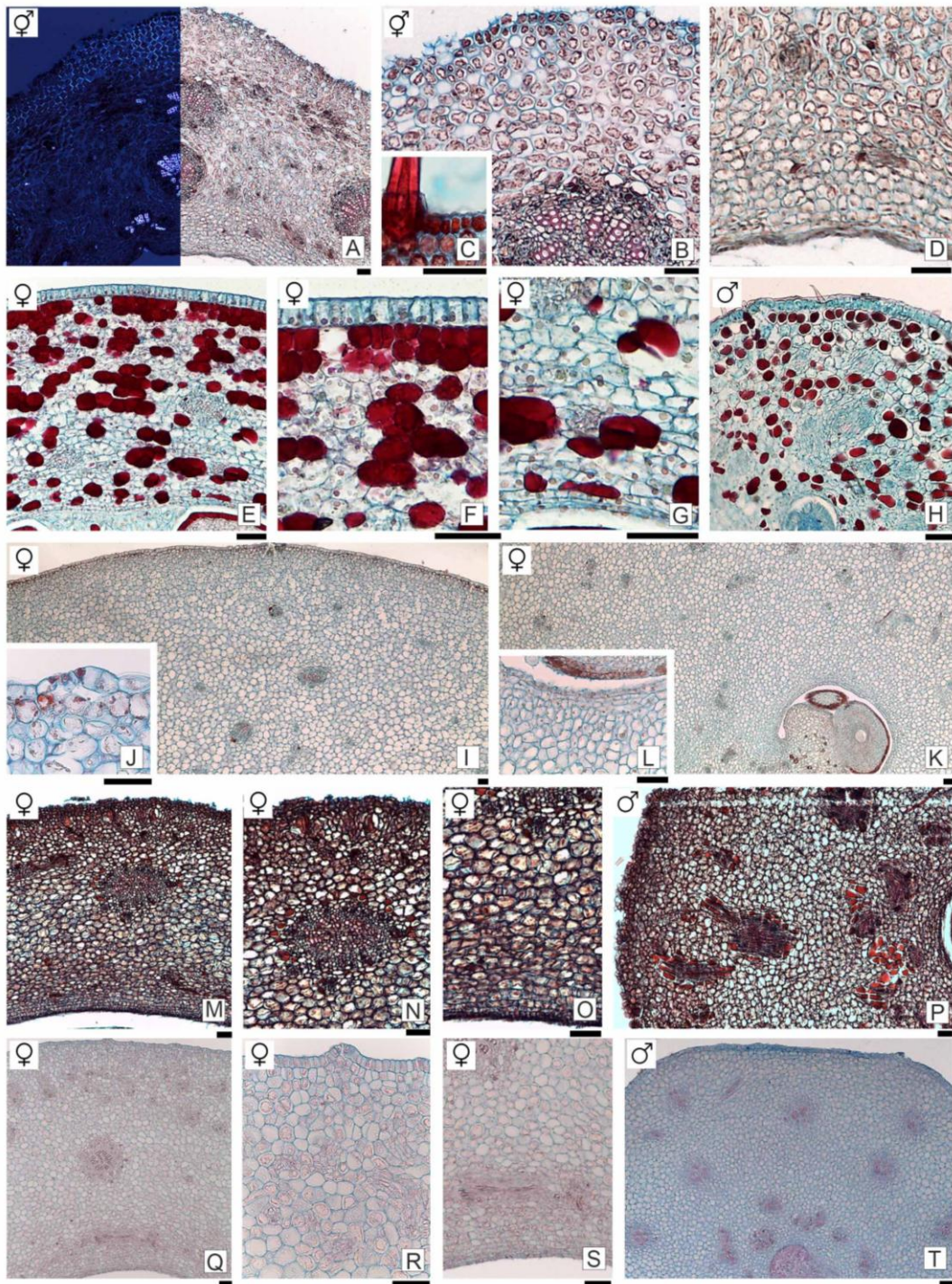


FIGURA 32. TRANSCORTE DE LA PARED DEL OVARIO. A-D. *T. formosa*. E-H. *C. concolor*. I-L. *G. americana*. M-P. *R. calycina*. Q-T. *R. sp. nov.* A, E, H, M, P, Q, T. Vista general. A. Hacia la izquierda con luz polarizada. B, F, I, N, R. Detalle de la zona externa. C, J. Detalle de la epidermis externa. D, G, K, O, S. Detalle de la zona interna. L. Detalle de la epidermis interna. En *T. formosa* y *R. calycina* los tricomas han sido removidos para realizar los cortes histológicos. Escalas: 50 μ m.

PLACENTACIÓN

En el ovario de las FP y FFP, del tabique central protruyen dos placentas que ocupan por completo los lóculos del ovario (Fig. 33 A-F, H-J, L-N, P-R). En *T. formosa*, *G. americana*, y las especies de *Randia* cada placenta se inserta a lo largo del septo (Fig. 33 A, H, L, P), en cambio, en *C. concolor* cada placenta se inserta en la región media-superior del septo (Fig. 33 D). En las placentas hay haces vasculares que llegan hasta la base de cada óvulo. Sobre cada placenta hay numerosos óvulos (>10), salvo en *C. concolor* que tiene solo 5-6 óvulos por placenta.

Se encontraron dos tipos de placentación: la placentación axilar típica está presente solo en *G. americana* (Fig. 33 H-J), los carpelos se cierran hacia el interior delimitando dos lóculos, las placentas quedan en la axila de esta línea de sutura y en su superficie se encuentran los óvulos. El otro tipo de placentación encontrado es la placentación axilar difusa, observada en las FP de *T. formosa* y en las FFP de *C. concolor* y de *Randia spp.* (Fig. B-C, E-F, I-J, M-N, Q-R) La diferencia con la placentación axilar típica radica en el crecimiento de las placentas, las cuales protruyen ocupando el interior de los lóculos y los óvulos quedan inmersos en ellas. Estos tejidos placentarios están formados por células parenquimáticas de contorno circular, con paredes delgadas. Hay taninos en *C. concolor* y drusas en *G. americana*, *R. calycina* y *R. sp. nov.*

¿Qué sucede en el ovario de las FFE?

En las FFE de las especies dioicas el gineceo tiene variado grado de reducción: el menor grado se da en *G. americana* en el que el tejido placentario es similar al de las FFP de dicha especie, en este caso se forman varios rudimentos de óvulos compuestos solo por parénquima (Fig. 33 K). En *C. concolor* y *Randia spp.*, el ovario puede tener dos lóculos con una placenta en cada uno y con un solo rudimento de óvulo (Fig. 33 G, O). Además, en éstas últimas puede haber un lóculo con una o dos placentas (Fig. 33 S), o darse el grado máximo de reducción en el que hay un lóculo pequeño sin placentas ni rudimentos de óvulos.

En los casos en que se forma un rudimento de óvulo, no hay diferenciación de tegumentos, no se forman gametas y no ocurren los procesos de megasporogénesis y megagametogénesis.

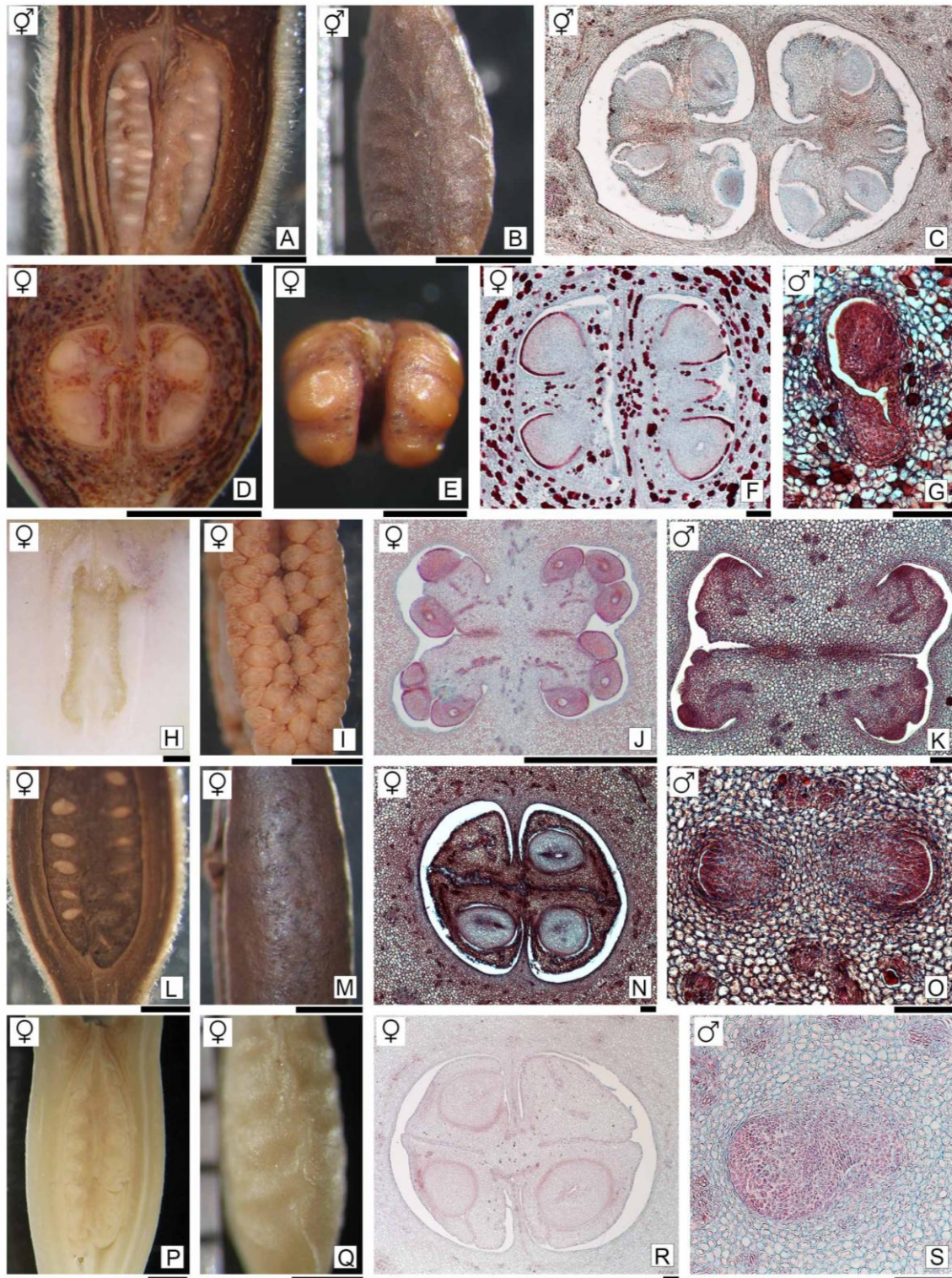


FIGURA 33. PLACENTACIÓN. A-C. *T. formosa*. D-G. *C. concolor*. H-K. *G. americana*. L-O. *R. calycina*. P-S. *R. sp. nov.* A, D, H, L, P. Corte longitudinal del ovario de las FFP a la altura de la placenta. B, E, I, M, Q. Placenta removida con los óvulos, salvo en I, en el resto los óvulos se encuentran cubiertos por la placenta. C, F-G, J-K, N-O, R-S. Transcorte de ovario a nivel de las placentas. C, F, N, R. Placentación axilar difusa. J-K. Placentación axilar típica. G, K, O, S. Placentas (CT) con anormales, no hay formación de óvulos. Escalas: A-B, D, H-I, L-M, P-Q= 1 mm; E= 0.5 mm; C, F-G, J-K, N-O, R-S= 100 μ m.

ÓVULOS. MEGASPOROGÉNESIS Y MEGAGAMETOGÉNESIS

En las FP y FFP los óvulos son hemianátropos, tenuinucelados y unitégmicos (Figs. 34 H; 35 H; 36 I; 37 H; 38 H). El único tegumento es masivo con más de 10 capas de células. En *C. concolor* y *G. americana*, las células epidérmicas del tegumento presentan taninos.

Los procesos de megasporogénesis y megagametogénesis se desarrollan normalmente en las FP y en las FFP. La diferenciación del óvulo y del saco embrionario es idéntica en todas las especies. A continuación se describen los principales estadios.

Estadio 1. Primordio del óvulo

En la superficie de las placentas se distinguen tres capas: dérmica, subdérmica y central (Figs. 34 A; 35 A; 36 A; 37 A; 38 A). La diferenciación del óvulo comienza tras la ocurrencia de divisiones en las tres capas, con lo que se forma una protuberancia, el primordio del óvulo. Dicho primordio se va proyectando hacia el lóculo a medida que va creciendo (Figs. 34 B; 35 B; 36 B; 37 B; 38 B). Lamentablemente no se contó con material donde se pueda ver detalladamente los estadios intermedios hasta completarse la curvatura hemítropa.

Estadio 2. Célula madre de la megáspora (CMM)

En óvulos con la nucela curvada a 90° se aprecia ya diferenciada la nucela y los bordes del tegumento, que aún no se cierran. La epidermis nucelar consta de pocas células en corte longitudinal (6-8) y es convexa (Figs. 34 C; 35 C; 36 C; 37 C; 38 C). Subepidérmicamente, una célula arqueospórica se diferencia en la célula madre de las megásporas (CMM), que se distingue de las demás células por ser alargada y con núcleo prominente. El único tegumento posee 4 a 7 células de espesor.

Estadio 3. Meiosis

La CMM sufre división meiótica, produciendo una díada y luego una tétrade lineal de megásporas (Figs. 34 D; 36 D-E; 37 D; 38 D). A medida que esto ocurre el crecimiento del tegumento delimita la micrópila. De las cuatro células resultantes de la meiosis, las tres cercanas a la micrópila degeneran (Figs. 35 D; 37 E; 38 E) y la restante forma una megáspora funcional.

Estadio 4. Saco embrionario

El tegumento aumenta notablemente de espesor volviéndose masivo debido a las divisiones en diferentes planos de sus células. La nucela empieza a consumirse. La megáspora funcional sufre tres divisiones mitóticas lo que origina un saco embrionario 7-celular de tipo *Polygonum* (Figs. 34 E-H; 35 E-G; 36 G-H; 37 F-G; 38 F-G): la óosfora, dos sinérgidas, la célula central y tres antípodas, las sinérgidas y las antípodas presentan citoplasma denso. Las sinérgidas presentan una vacuola hacia el extremo calazal y un núcleo cercano al extremo micropilar. El aparato filar se hace evidente en las sinérgidas (Fig. 34 F-G). El citoplasma de la célula central se llena de granos de almidón. (Figs. 34 G; 35 G; 36 G-H; 38 G).

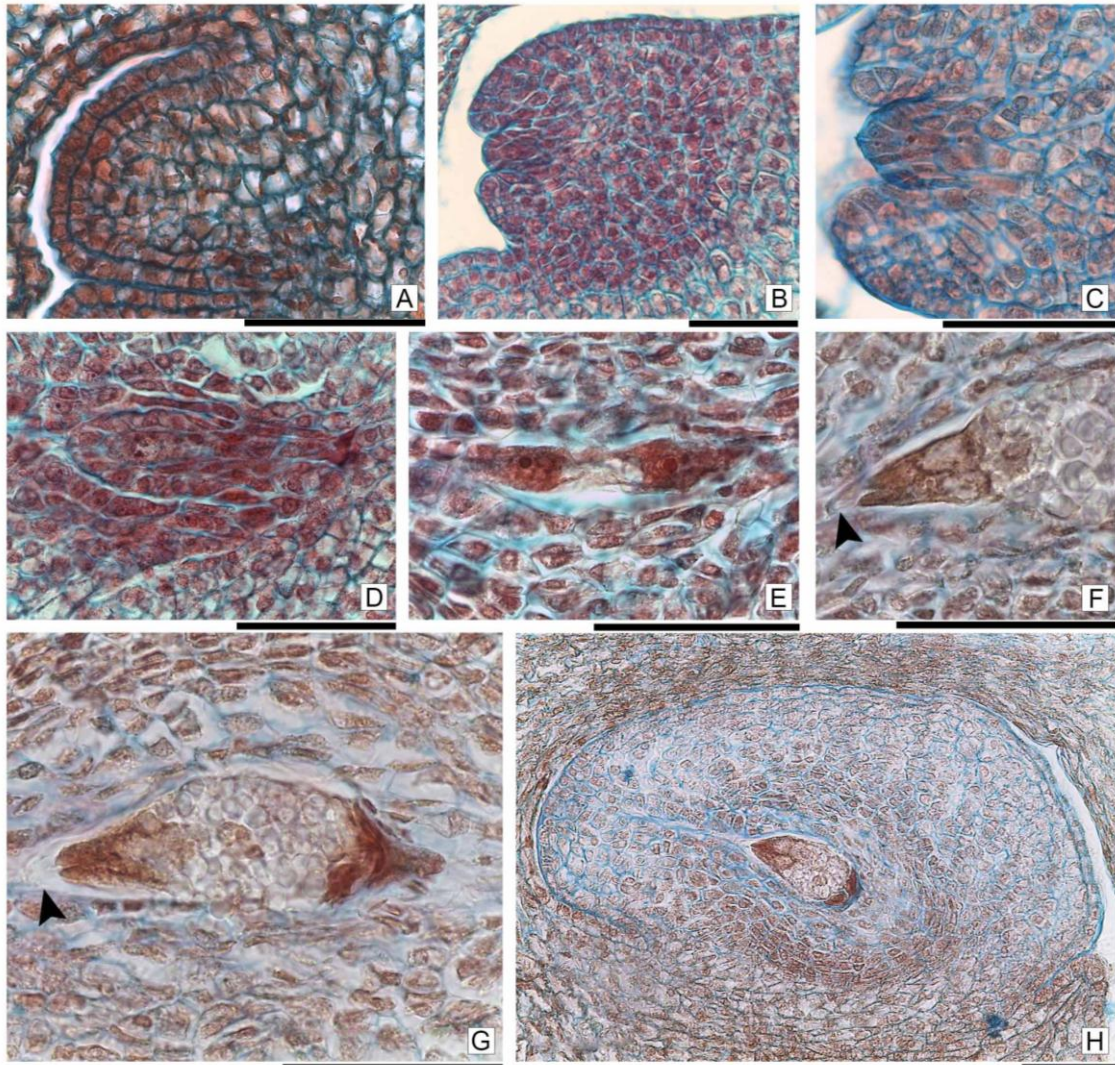


FIGURA 34. DIFERENCIACIÓN DEL ÓVULO Y DEL SACO EMBRIONARIO EN *T. FORMOSA*. **A.** Placenta. **B.** Primordio del óvulo. **C.** Célula arquesporial. **D.** CMM. **E.** Gametofito binucleado. **F-G.** Saco embrionario maduro con granos de almidón, la punta de flecha indica el aparato filar. **H.** Óvulo maduro. **Escala:** 50 μm .

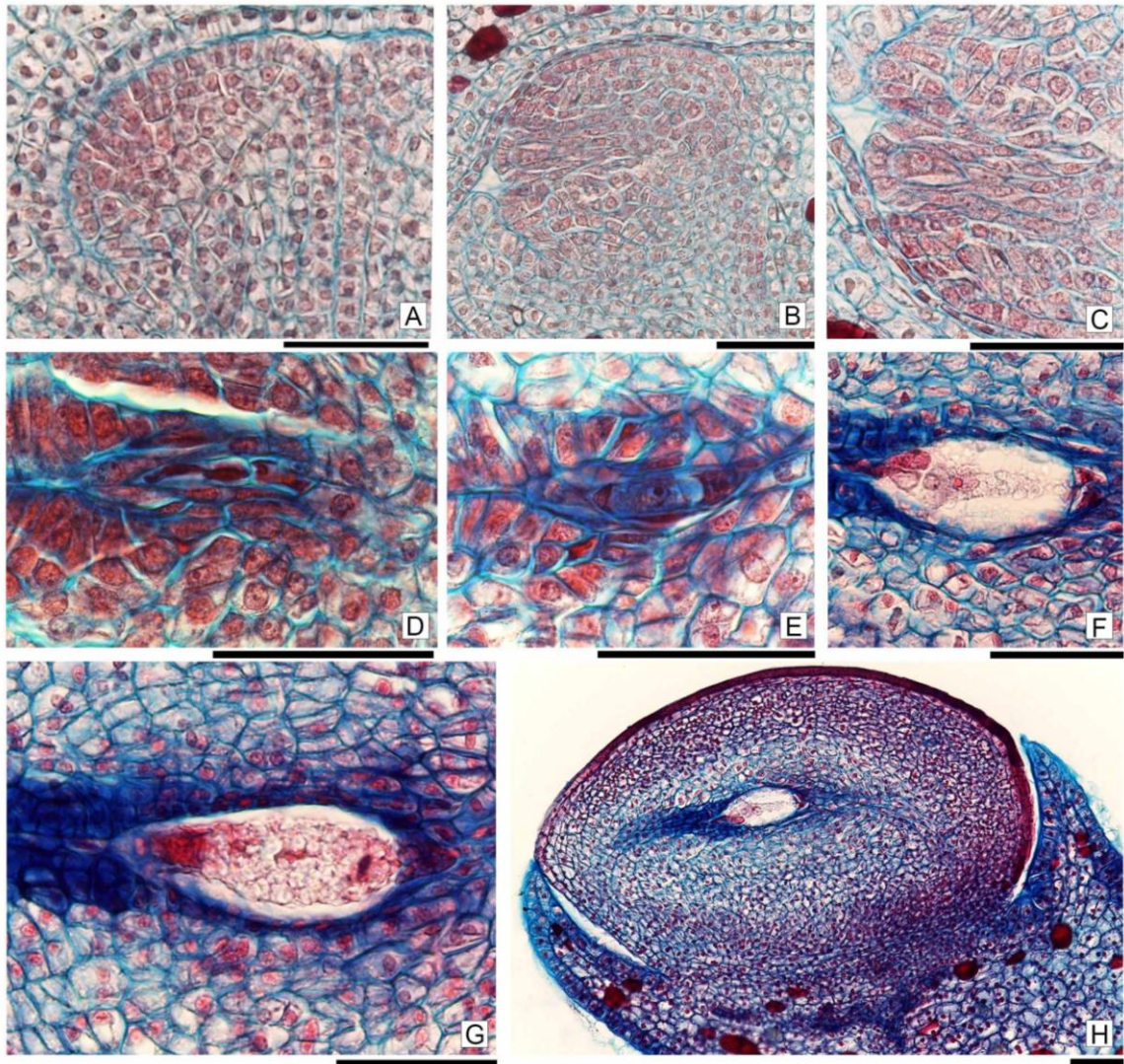


FIGURA 35. DIFERENCIACIÓN DEL ÓVULO Y DEL SACO EMBRIONARIO EN *C. CONCOLOR*. A-B. Primordio del óvulo. C. CMM. D. Tétrade lineal con las células cercanas a la micrópila colapsadas. E-F. Gametofito joven. G. Saco embrionario maduro con granos de almidón. H. Óvulo maduro. Escalas: 50 μ m.

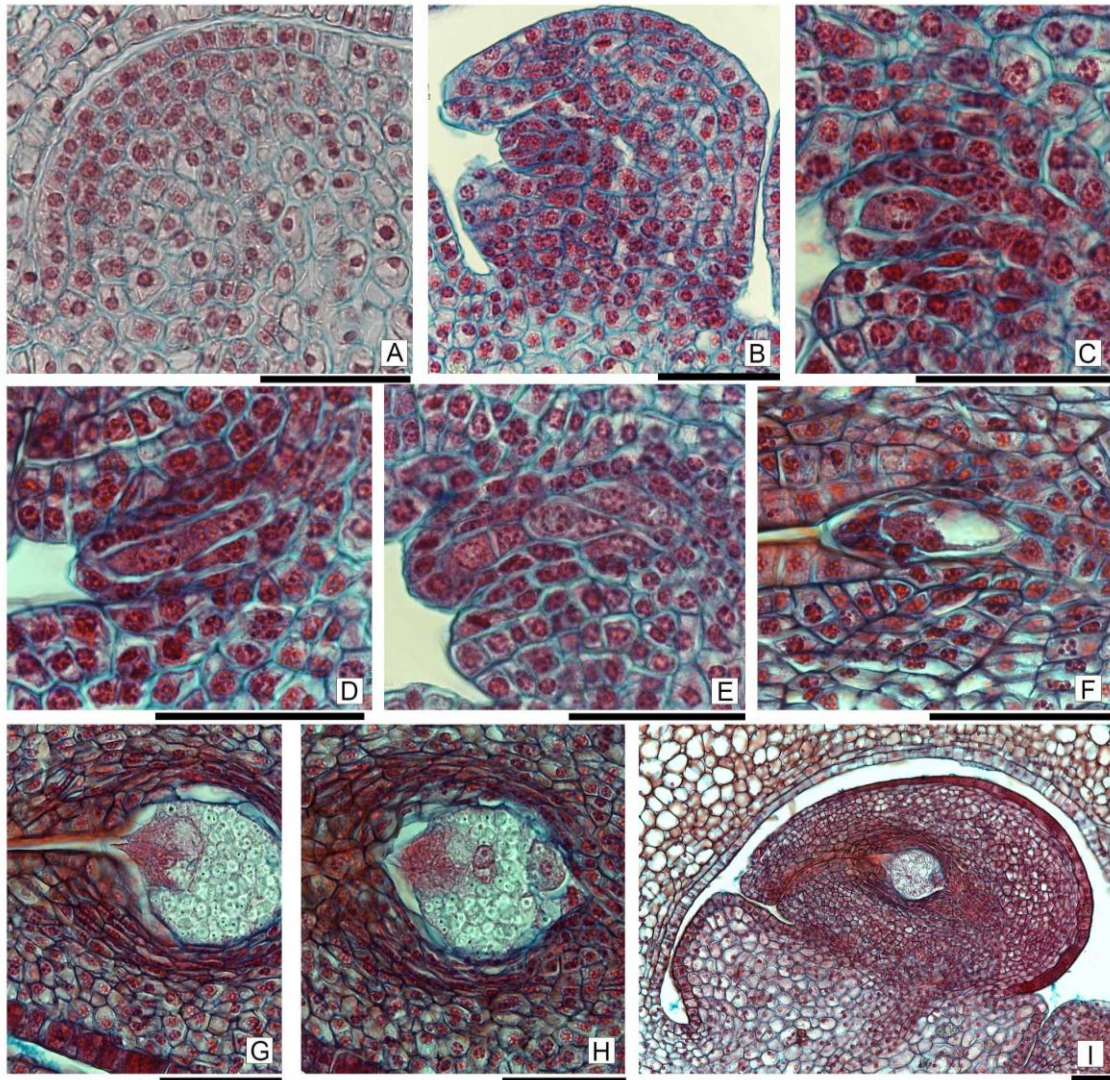


FIGURA 36. DIFERENCIACIÓN DEL ÓVULO Y DEL SACO EMBRIONARIO EN *G. AMERICANA*. A. Capas meristemáticas. B. Primordio del óvulo con célula arqueosporial. C. CMM. D. Díada. E. Tétrade lineal. F. Gametofito joven. G-H. Saco embrionario maduro con granos de almidón. I. Óvulo maduro. Escalas: 50 μm.

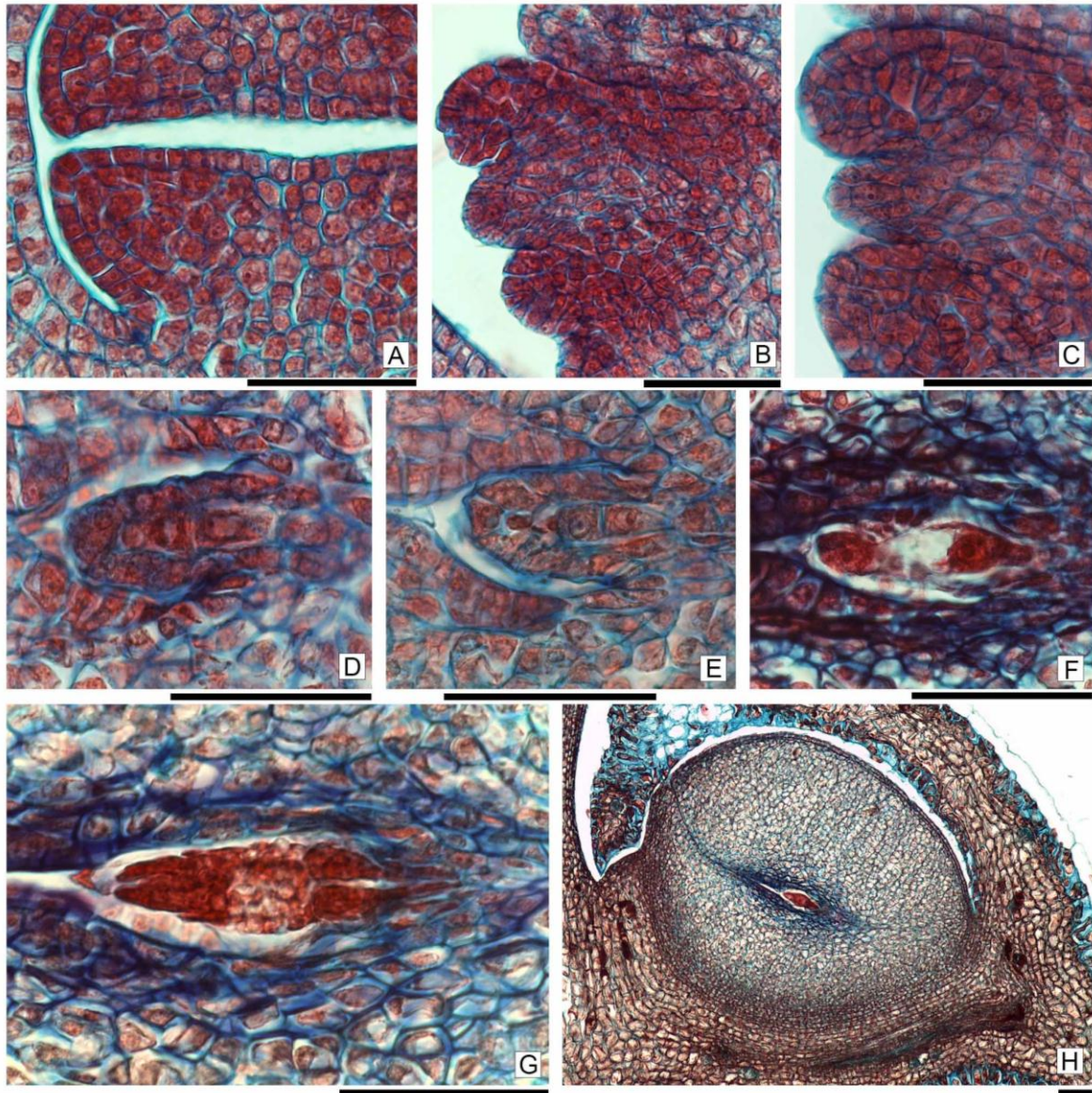


FIGURA 37. DIFERENCIACIÓN DEL ÓVULO Y DEL SACO EMBRIONARIO EN *R. CALYCINA*. **A.** Capas meristemáticas. **B.** Primordio del óvulo con célula arquesporial. **C.** CMM. **D.** Díada. **E.** Tétrade lineal, las células cercanas a la micrópila están colapsadas. **F.** Gametofito joven. **G.** Saco embrionario maduro con granos de almidón. **H.** Óvulo maduro rodeado por tejido placentario. **Escala:** 50 μm.

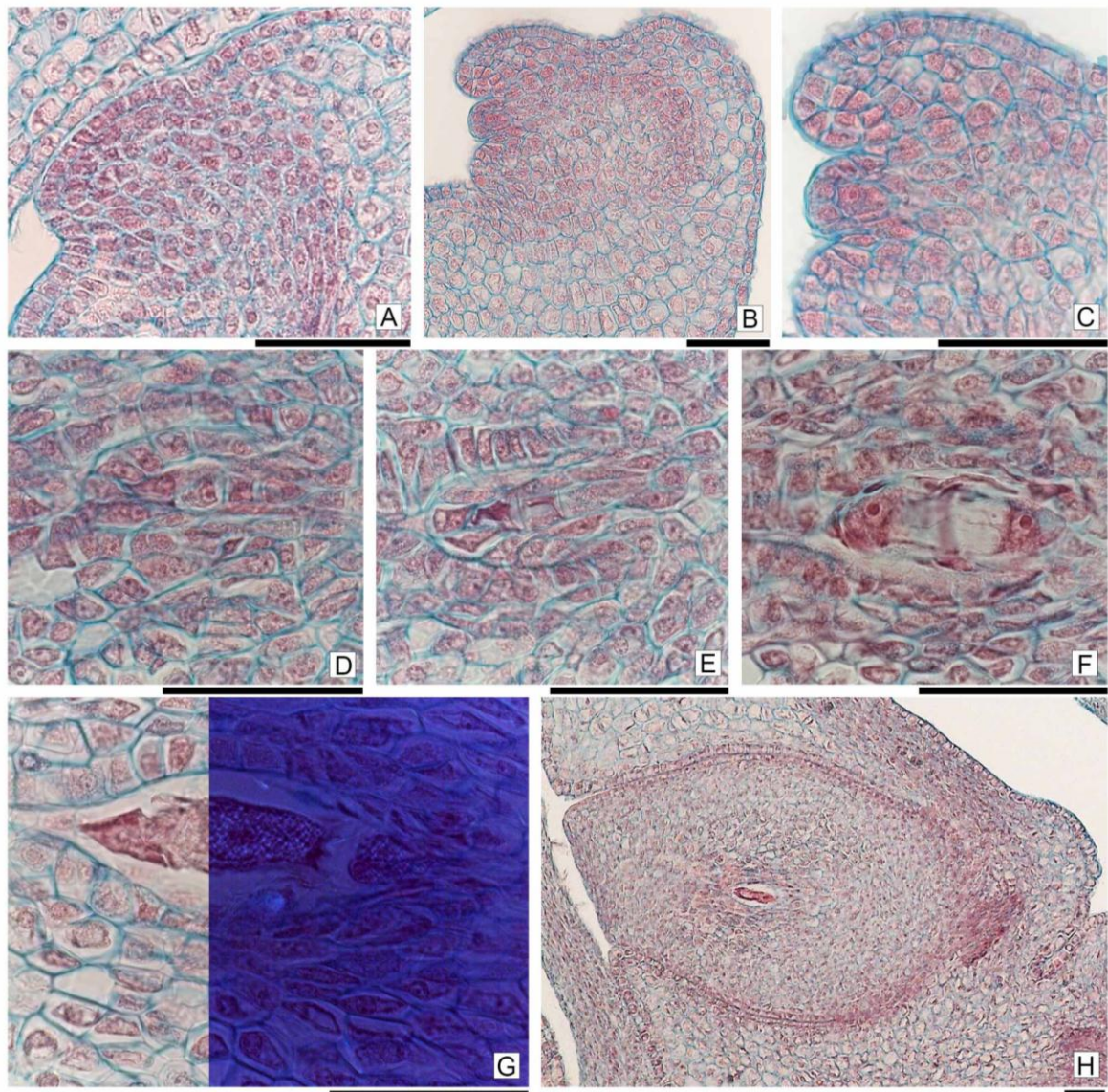


FIGURA 38. DIFERENCIACIÓN DEL ÓVULO Y DEL SACO EMBRIONARIO EN *R. SP. NOV.* **A.** Capas meristemáticas. **B.** Primordio del óvulo con célula arquesporial. **C.** CMM. **D.** Tétrade lineal. **E.** Tétrade lineal, las células cercanas a la micrópila están colapsadas. **F.** Gametofito joven. **G.** Saco embrionario maduro con granos de almidón. **H.** Óvulo maduro rodeado por tejido placentario. **Escala:** 50 μm.

DISCUSIÓN

En Rubiaceae, la estructura del gineceo puede presentar diferencias en la posición y estructura de la placenta, el número de óvulos y su orientación, caracteres ya descritos en la bibliografía de la familia (Svomo, 1991; De Toni & Mariath, 2010). En las especies estudiadas las características generales encontradas son constantes entre las FP y FFP y entre las FFE.

ESTILO Y ESTIGMA

El estilo en todas las especies resultó ser similar. Solo en las FFE de *C. concolor* pueden haber tricomas. Anatómicamente, el estilo de las especies analizadas es macizo, lo que concuerda con otras especies de Rubiaceae analizadas (De Block & Igersheim, 2001, Florentin *et al.*, 2016). Knox (1984) describe el estilo tipo cerrado cuando el tejido de transmisión tiene varias células de espesor y es macizo, siendo este el tipo de las especies aquí estudiadas. Otras especies estudiadas de la familia presentan este tipo de anatomía (Florentin *et al.*, 2016).

Una de las principales características para diferenciar entre estigmas es si son secos, cuando la secreción forma una delgada película en la superficie, o húmedos, cuando presenta una secreción fluida en la superficie (Endress, 1994). De las especies analizadas, solo las especies de *Randia* tienen estigmas húmedos, en las restantes son secos.

El estigma presenta dos ramas estigmáticas que están parcialmente soldadas, siendo libres en los extremos, solo en *T. formosa* estas ramas llegan a desplegarse en su totalidad. Según De Block & Igersheim (2001), esta fusión parcial en el estigma es característica de muchos géneros de la tribu Pavetteae. Dichos autores estudiaron la fusión de los lóbulos del estigma en especies de los géneros *Rutidea* y *Nichaella*, en las cuales no se separan los lóbulos correspondiendo a una fusión permanente. Estas especies presentan flores perfectas y mecanismo de presentación secundaria del polen. Encontraron en esos géneros que la superficie interna del estigma es papilosa, y que el tejido de transmisión es continuo con dicha superficie, y por lo tanto es la superficie receptiva; mientras que la superficie externa del estigma funciona como presentador del polen. Dichos resultados son similares a los encontrados en el presente estudio. En las especies analizadas de *Gardenieae*, si consideramos la continuidad del tejido de transmisión desde el estilo (escasamente desarrollado en las FFE) hacia la epidermis de la superficie interna del estigma, se puede inferir que ésta es la superficie receptiva. La superficie externa del estigma participa en la

presentación secundaria del polen en *T. formosa* y en las FFE de las especies restantes (ver capítulo IV).

OVARIO/TUBO FLORAL

Mientras que en la pared del ovario de *T. formosa* se distinguieron tres zonas, en el resto de las especies se distinguieron solo dos zonas. En cada especie dichas zonas se diferencian por la forma de las células, la presencia de espacios intercelulares y la ubicación de los haces vasculares. Entre las FFP y las FFE la principal diferencia se da en el mayor espesor de la pared en las FFP, lo cual es lógico considerando la falta de estructuras sexuales en los carpelos de las flores funcionalmente estaminadas. La presencia de haces vasculares colaterales y la disposición de las células de la región interna de la pared del ovario coincide con lo descrito en otras Rubiáceas como *Oldenlandia salzmannii* (tribu Spermaceae, Florentin *et al.*, 2016), *Nichaella soyauxii* y *Rutidea spp.* (tribu Pavetteae, De Block, 1995).

Además se encontraron diferencias entre las especies en cuanto a su indumento, ocurrencia y distribución de taninos y de drusas.

Si bien en esta familia históricamente se menciona el origen apendicular de los tejidos extracarpelares del ovario ínfero (Douglas, 1957), el estudio histológico aquí realizado no permitió diferenciar en el corte transversal las áreas que corresponderían estrictamente al ovario de las del tejido que las rodea, para lo cual se necesitaría el análisis detallado de la vascularización floral.

PLACENTACIÓN

Entre las especies analizadas de *Gardenieae* con FP y FFP, se encontraron dos tipos de placentación teniendo en cuenta la proliferación de las placentas: placentación axilar típica en *G. americana*, y placentación axilar difusa en *T. formosa*, *C. concolor* y las especies de *Randia*. Esto concuerda con los tipos de placentación descritos por Hallé (1967) para la tribu *Gardenieae*. Según dicho autor, la placentación axilar difusa sería un tipo particular de placentación propio de esta tribu. Entre las especies con este tipo de placentación hay diferencias en cuanto a la disposición de cada placenta en el septo, mientras que en *T. formosa* y *Randia spp.* se dispone a lo largo de todo el septo, en *C. concolor* lo hace en la mitad superior.

ÓVULO

En la familia fueron descritos óvulos anátropos, campilótropos, hemianátropo y hemítropos (Tabla 6); sin embargo, los dos últimos términos son sinónimos y se aplican cuando la nucela no alcanza a completar el giro anátropo (Font Quer, 1953; Endress, 2011).

En Rubiaceae hay numerosos tipos de óvulos: Fagerlind (1937) en base al número de tegumentos, el número de células arquesporales y la forma de la epidermis nucelar, determina seis diferentes tipos de óvulos y propone su tendencia evolutiva. Basados en dicha clasificación, estudios posteriores realizados por Galati (1991), De Toni & Mariath (2008, 2010) y Figueiredo *et al.* (2017) amplían a 11 el número de tipos de óvulos encontrados en la familia (ver tabla 6).

TABLA 6. TIPOS DE ÓVULOS EN RUBIACEAE CLASIFICADOS A LA FECHA.

Tipo de óvulo	Células arquesporales	Epidermis nucelar	Teg. Externo	Referencias
<i>Phyllis</i>	1-2	convexa	vestigios	Fagerlind, 1937 De Toni & Mariath 2008, 2010
<i>Vaillantia</i>	varias	plana formada por varias células	ausente	Fagerlind, 1937
<i>Oldenlandia</i>	3-4	plana, formada por 1-2 células	ausente	Fagerlind, 1937
<i>Houstonia</i>	3-4	Sin epidermis nucelar ni canal micropilar	ausente	Fagerlind, 1937
<i>Rubia</i>	3-4	con pocas células piramidales	ausente	Fagerlind, 1937
<i>Bouvardia</i>	3	plana		Fagerlind, 1937
<i>Mitracarpus</i>	1-3	tres células piramidales más cortas que en el tipo <i>Rubia</i>	vestigios	Galati, 1991 De Toni & Mariath 2004, 2008, 2010
<i>Psychotria</i>	varias	convexa	vestigios	De Toni & Mariath, 2008, 2010
<i>Galium</i>	varias	plana con un reducido número de células, más alargadas que en los otros tipos	ausente	De Toni & Mariath, 2008
<i>Ixora</i>	8	plana	óvulo erecto	De Toni & Mariath 2008
<i>Chomelia</i>	8	plana	óvulo péndulo	Figueiredo <i>et al.</i> , 2017

Además, De Toni & Mariath (2008) utilizan la posición erecta o péndula para distinguir dos tipos de óvulos: *Ixora* y *Chomelia*.

En las especies aquí analizadas el óvulo es hemianátropo, unitégmico, posee una sola célula arquesporrial y la epidermis nucelar es convexa. Dado que en este tipo de óvulos hay una sola célula arquesporrial y no se observaron vestigios del tegumento externo, difiere de los propuestos previamente, por lo que se propone asignarle el tipo *Gardenia* (Fig. 39) para representar a las especies del presente estudio. Galati (1991) describe el tipo de óvulo *Mitracarpus* en especies de *Borreria*, *Diodia*, *Mitracarpus* y *Richardia*, y menciona que en éstas, si bien puede haber más de una célula arquesporrial, solo una origina a la CMM. En cambio, en las especies analizadas de *Gardenieae*, hay siempre una sola célula arquesporrial.

De Toni & Mariath (2008), en base a trabajos previos, mencionan que las tendencias evolutivas en los tipos de óvulos de Rubiaceae son: la desaparición del tegumento externo, la forma de la epidermis nucelar de convexa a plana, la reducción del número de células arquesporriales y la elongación de las células de la epidermis nucelar. Considerando el esquema más actual de los tipos de óvulos y su tendencia evolutiva (Figueiredo *et al.*, 2013), se propone agregar al óvulo tipo *Gardenia* como un estado más derivado al tipo *Ixora* debido a la disminución del número de células arquesporriales a una. En la figura 39 se representa al óvulo tipo *Gardenia* en un esquema de los tipos de óvulos y su tendencia evolutiva modificado de los esquemas realizados por Fagerlind (1935), Galati (1991), De Toni & Mariath (2008, 2010) y Figueiredo *et al.* (2013).

Nucela y tegumento: en Rubiaceae la nucela está compuesta por la epidermis y el tejido arquesporrial (Fagerling, 1937; De Toni & Mariath, 2010). Si bien estos óvulos se reconocen como tenuinucelados, a su vez Shamrow (1998) describe dos variaciones: tenuinucelados típicos, cuando la epidermis envuelve a la CMM, y tenuinucelados reducidos, cuando la epidermis nucelar está formada por unas pocas células y no envuelve la CMM, presente en Rubiaceae, Oleaceae y Apocynaceae. Según De Toni & Mariath (2008), Fagerling (1937) propone que la familia tiene tres tipos de nucela: típica, reducida y desnuda (atégmica), mientras que Shamrow (1998) afirma que el óvulo de las Rubiaceae tienen epidermis nucelar típica. Teniendo en cuenta esta clasificación, los óvulos de las especies analizadas tienen epidermis nucelar típica.

En las Angiospermas los tegumentos varían en número y en grosor. El número básico es dos, pero pueden estar reducidos a uno y excepcionalmente a cero (Endress, 2011). En las especies analizadas los óvulos tienen un solo tegumento, lo que apoyaría las conclusiones de otros autores que mencionan que la condición unitegumentada del óvulo es un carácter constante en Rubiaceae (Fagerlind, 1937; Robbrecht, 1988; De Toni & Mariath, 2008, 2010). Por otra parte, De Toni & Mariath (2004), observaron en *Borreria verticillata* (tribu Spermaceae) la presencia de vestigios del tegumento externo durante la formación del rudimento seminal, mencionada también en otros géneros de la familia por Fagerlind (1937) y Andronova (1977). Contrariamente a esto, en las especies analizadas no se observaron vestigios de un segundo tegumento.

Además, el grosor de los tegumentos es un carácter relativamente estable y representa un carácter de importancia a nivel macrosistemático (Endress, 2011). En las *Gardenieae* estudiadas el tegumento es masivo desde su origen y producto de las divisiones de sus células en diferentes planos. Óvulos con el tegumento masivo han sido descritos también en otras Rubiaceae como en las especies de *Rutidea* (De Block, 1995), *Chomelia obtusa* e *Ixora coccineae* (De Toni & Mariath, 2008), *Relbium spp.* (De Toni & Mariath, 2010), *Guettarda pohliana* (Figueiredo *et al.*, 2017b); sin embargo, la descripción del espesor del tegumento es un carácter que pasa desapercibido en los trabajos de embriología de Rubiaceae.

Diferenciación y tipo de saco embrionario: en las FP y en las FFP el saco embrionario es del tipo *Polygonum*, presente en la mayoría de las Angiospermas (Johri, 1984), incluidas las Rubiaceae (ver tabla 7). Además, el saco embrionario maduro presentó granos de almidón en la célula del medio, lo que concuerda con Hallé (1967) quien menciona que ésta es una característica común en las especies de *Gardenieae*. Este compuesto se ha encontrado también en sacos de otras especies de Rubiaceae de las tribus Pavetteae (Von Teichman *et al.*, 1982; De Block, 1995) y Rubieae (De Toni & Mariath, 2010).

En Rubiaceae, el único trabajo de embriología en especies con dioecia críptica que se conoce es en *Mussaenda pubescens* (tribu Mussaendeae, Li *et al.*, 2010). En esta especie, se reconocen dos morfos florales: L (FFP) y S (FFE). El morfo L tiene una diferenciación normal del óvulo y del saco embrionario (tipo *Polygonum*). Sin embargo, el morfo S presenta megasporogénesis y megagametogénesis anormales, con detención de los procesos en distintas etapas (generalmente tétrades) y la consecuente ausencia de óvulos funcionales. A diferencia de lo que sucede en *M. pubescens*, en las especies de *Gardenieae*

con FFE no hay óvulos. Solo puede haber rudimentos de óvulos formados por parénquima indiferenciado, sin diferenciación de arquéspora.

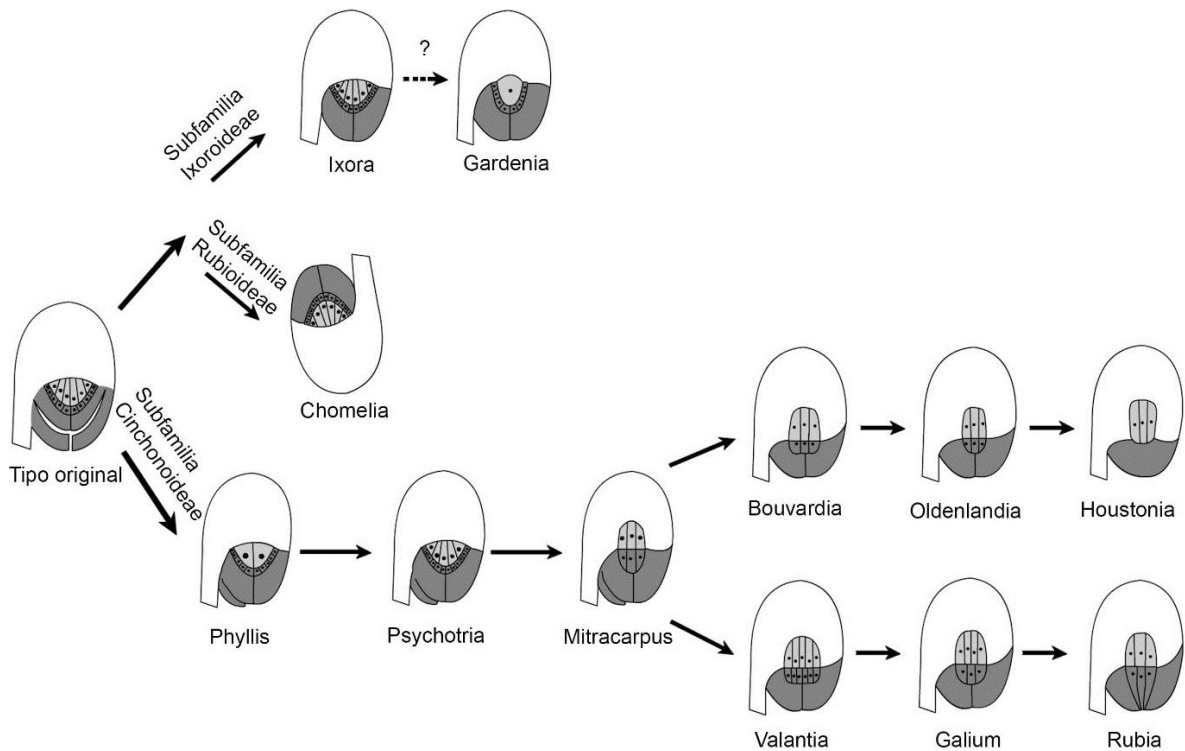


FIGURA 39. TIPOS DE ÓVULOS EN RUBIACEAE. Esquemas modificados a partir de Fagerlind (1935), Galati (1991), De Toni & Mariath (2008, 2010) y Figueiredo *et al.* (2013) para la inclusión del óvulo tipo *Gardenia*. En gris oscuro el tegumento y la epidermis nucelar, en gris claro las células arqueosporiales.

TABLA 7. CARACTERÍSTICAS DEL ÓVULO EN DIFERENTES ESPECIES DE LA FAMILIA RUBIACEAE. Referencias: an= anátropo, ca= campilótropo, ha= hemianátropo, he= hemítropo.

Especie	Subfamilia	Tribu	Óvulo	Tipo de saco embrionario	presencia de almidón	Referencias
<i>Chomelia obtusa</i>	Cinchonoideae	Guettardeae	An	<i>Polygonum</i>	sin dato	De Toni & Mariath, 2008
<i>Guettarda pohliana</i>	Cinchonoideae	Guettardeae	An	<i>Polygonum</i>	sin dato	Figueiredo <i>et al.</i> , 2013b
<i>Dentella repens</i>	Cinchonoidea	Hedyotideae	He	<i>Polygonum</i>	no	Maheswari Devi & Krishnam Raju, 1980
<i>Dentella serpyllifolia</i>	Cinchonoideae	Hedyotideae	He	<i>Polygonum</i>	no	Maheswari Devi & Krishnam Raju, 1980
<i>Dialypetalanthus fuscescens</i>	Ixoroideae	Condamineae	An	<i>Dialypetalanthus</i>	sin dato	Figueiredo <i>et al.</i> , 2017 ^a
<i>Ixora coccinea</i>	Ixoroideae	Ixoreae	Ha	<i>Polygonum</i>	sin dato	De Toni & Mariath, 2008
<i>Mussaenda pubescens</i> (L- morph)	Ixoroideae	Mussaendeae	An	<i>Polygonum</i>	sin dato	Li <i>et al.</i> , 2010
<i>Mussaenda pubescens</i> (S-morph)	Ixoroideae	Mussaendeae	an	Si se forma es 2-nucleado y se atrofia	sin dato	Li <i>et al.</i> , 2010
<i>Rutidea spp.</i>	Ixoroideae	Pavetteae	Ca	sin dato	sí	De Block, 1995
<i>Pavetta gardeniifolia</i>	Ixoroideae	Pavetteae	He	<i>Polygonum</i>	sí	Von Teichman <i>et al.</i> , 1982
<i>Psychotria cathagenensis</i>	Rubioideae	Psychotrieae	An	<i>Polygonum</i>	sin dato	Figueiredo <i>et al.</i> , 2013a
<i>Rudgea macrophylla</i>	Rubioideae	Palicoureeae	An	<i>Polygonum</i>	sin dato	Figueiredo <i>et al.</i> , 2013a
<i>Relbunium spp.</i>	Rubioideae	Rubieae	An	<i>Polygonum</i>	sí	De Toni & Mariath, 2010
<i>Oldenlandia salzmanni</i>	Rubioideae	Spermacoceae	He	<i>Polygonum</i>	no	Nuñez <i>et al.</i> , 2016
<i>Borreria verticillata</i>	Rubioideae	Spermacoceae	An	<i>Polygonum</i>	sin dato	De Toni & Mariath, 2004

BIBLIOGRAFÍA

- Andronova NN. 1977.** On the structure of the ovule of Rubiaceae. *Botanische Zeitung* 62: 1461–1469.
- De Block P. 1995.** Ovary, seed and fruit of *Rutidea* (Rubiaceae, Pavetteae). *Pl. Syst. Evol.* 196: 1–17.
- De Block P & A Igershein. 2001.** Stigma of the African Genera *Rutidea* and *Nichallea* (Rubiaceae-Ixoroideae-Pavetteae): highly modified receptive surfaces. *Int. J. Pl. Sc.* 162: 567–578.
- De Toni KLG & Mariath JEA. 2004.** Desenvolvimento do rudimento seminal em *Borreria verticillata* (L.) G. Mey. (Rubiaceae – Rubioideae – Spermaceae). *Rev. Brasil. Bot.* 27: 185–192.
- De Toni KLG & JEA Mariath. 2008.** Ovule ontogeny in Rubiaceae (Juss.): *Chomelia obtuse* (Cinchonoideae–Guettardeae) and *Ixora coccinea* (Ixoroideae–Ixoreae). *Pl. Syst. Evol.* 272: 39–48.
- De Toni KLG & JEA Mariath. 2010.** Ovule ontogeny of *Relbunium* species in the evolutionary context of Rubiaceae. *Austral. J. Bot.* 58: 70–79.
- Douglas GE. 1957.** The inferior ovary. *Bot. Rev.* 23:1-46.
- Endress PK. 2011.** Angiosperm ovules: diversity, development, evolution. *Ann. Bot.* 107: 1465–1489.
- Fagerlind F. 1937.** Embryologische, zytologische und bestäubungsexperimentelle studien in der familie Rubiaceae nebst Bemerkungen über einige polyploiditätsprobleme. *Acta Horti Berg.* 2: 196–470.
- Florentin MN, Cabaña Fader A & AM Gonzalez. 2016.** Morpho-anatomical and morphometric studies of the floral structures of the distylous *Oldenlandia salzmannii* (Rubiaceae). *Acta Bot. Bras.* 30: 585–601.
- Figueiredo RC, Masullo FA, Vieira RC & KLG De Toni. 2013a.** Development of carpels and ovules in *Psychotria carthagenensis* (Psychotrieae) and *Rudgea macrophylla* (Palicoureeae) (Rubioideae, Rubiaceae). *S. African J. Bot.* 84: 110–114.
- Figueiredo RC, Vieira RC, De Toni KLG. 2013b.** Development of the gynoecium of *Guettarda pohliana* in the context of Rubiaceae evolution. *Botany* 91: 562-567.
- Figueiredo RC, Vieira RC, Mariath JEA, Moço MCC & KLG De Toni. 2017.** Development of carpels and ovules in *Dialypetalanthus fuscescens* Kuhl. (Rubiaceae): an enigmatic taxon. *Acta Bot. Bras.* 31: 128–133.

- Font Quer.** 1953. Diccionario de Botánica. Barcelona, Labor, 1244 p.
- Galati BG.** 1991. Estudios embriológicos en la tribu Spermaceae (Rubiaceae). Parte 1: Anatomía floral. Megasporogénesis. Megagametogénesis. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 27: 7–20.
- Hallé F.** 1967. Étude biologique et morphologique de la tribu des Gardéniees (Rubiaceae). *Mém. O.R.S.T.O.M.*, 22: 1–146.
- Herr JM.** 1984. Embryology and taxonomy. In Embryology of Angiosperms (BM Johri ed.). Springer-Verlag, Berlin, 647–696 p.
- Knox RB.** 1984. The pollen grain. In: Johri BM (ed), Embryology of Angiosperms. Springer, Heidelberg, 197–271 pp.
- Lloyd FE.** 1899. The comparative embryology of the Rubiaceae. *Mem. Torrey Bot. Club.* 8: 1–111.
- Maheswari Devi H & PVSNG Krishnam Raju.** 1980. Embryology of two species of *Dentella* (*Dentella repens* and *Dentella serpyllifolia*). *Proc. Indian Acad. Sci. (Plant Sci.)* 89: 213–218.
- Mayer SS & D Charlesworth.** 1991. Cryptic dioecy in flowering plants. *Trends Ecol. Evol.* 6: 320–325.
- Núñez MF, Cabaña Fader A & AM Gonzalez.** 2016. Morpho-anatomical and morphometric studies of the floral structures of the distylous *Oldenlandia salzmannii* (Rubiaceae). *Acta Bot. Bras.* 30: 585–601.
- Robbrecht E.** 1988. Tropical woody Rubiaceae. *Opera Bot. Belg.* 1:1–271.
- Shamrow II.** 1988. Ovule classification in flowering plants – new approaches and concepts. *Bot. Jahrb. Syst.* 120: 377–407
- Svoma E.** 1991. The development of the bicarpellate gynoecium of *Paderia* L. species (Rubiaceae – Paederieae). *Opera Bot. Belg.* 3: 77–86.
- Schleiden MJ.** 1837. Einige Blicke auf die Entwicklungsgeschichte des vegetabilischen Organismus bei den Phanerogamen. *Arch. Naturgesch.* 1: 289–414.
- Von Teichman I, Robbertse PJ & CF Van der Merwe.** 1982. Contributions to the floral morphology and embryology of *Pavetta gardeniifolia* A. Rich. Part 2. The ovule and megasporogenesis. *S. Afr. J. Bot.* 1: 22–27.

Capítulo IV: Estrategias reproductivas

INTRODUCCIÓN

La familia Rubiaceae presenta una gran variedad de mecanismos florales para la reproducción sexual, caracterizados por distintos tipos de organización del gineceo y del androceo (Castro *et al.*, 2008).

Robbrecht (1988) reconoce tres mecanismos principales en la familia: 1) la heterodistilia, 2) la presentación secundaria del polen y 3) la unisexualidad de las flores. Cada mecanismo está generalmente asociado a algún grupo de Rubiaceae: la heterostilia comúnmente ocurre en especies de las tribus Hedyotideae y Psychotrieae; la presentación secundaria del polen sobre el estilo generalmente se observa en *Gardenieae* y tribus relacionadas; y la unisexualidad de las flores está presente en un 10% de los géneros de Rubiaceae, ocurriendo incluso en los grupos con presentación estilar del polen (Robbrecht, 1988).

Por otro lado, Hallé (1967) reconoce para la tribu *Gardenieae* los siguientes mecanismos para evitar la autogamia:

- La protandria es un tipo de dicogamia en la que el polen es presentado antes de que el estigma sea receptivo (Imbert & Richards, 1993; Raju & Radhakrishna, 2017), es decir que hay una separación temporal de las fases sexuales que promueve el entrecruzamiento (McDade, 1986). En cambio, la heterostilia incluye la separación espacial (hercogamia) entre las anteras y el estigma con diferentes alturas recíprocas (Weberling, 1989; Endress, 1994; Castro *et al.*, 2008).
- En el mecanismo Ixoroide, en los botones florales los estambres presionan contra la parte superior del estilo y depositan su contenido allí; al producirse la antesis, el estilo se extiende pudiendo doblar o triplicar su longitud, facilitando la dispersión del polen depositado sobre el estigma (Hallé, 1964). Tal como dicho autor menciona en las *Gardenieae* esta es una “*une forme améliorée de la protandrie* (una forma mejorada de protandria)”.
- La presentación secundaria del polen es una adaptación en la que el polen es ubicado en otros órganos además de las anteras, tales como otros componentes del androceo, el gineceo, el perianto o las brácteas. En Rubiaceae los órganos presentadores son estilo y estigma (Howell *et al.*, 1993; Yeo, 1993).

- La unisexualidad de las flores puede darse por aborto de un verticilo sexual o porque la flor desde un principio solo forma un verticilo sexual (Mitchell & Diggle, 2005).

En las especies analizadas se conoce poco sobre las estrategias que emplean estas plantas para reproducirse.

ESTE CAPÍTULO TIENE COMO OBJETIVOS:

- 1) Determinar los mecanismos de reproducción de cada especie, y
- 2) Comparar dichos mecanismos con los ya conocidos para la familia.

RESULTADOS

Las observaciones de campo y de laboratorio permitieron encontrar que en cada una de las especies analizadas, existen diferentes estrategias de reproducción.

En *Tocoyena formosa*, especie hermafrodita, se da la protandria y la presentación secundaria del polen. En *Cordia concolor*, *Genipa americana*, *Randia calycina* y *Randia sp. nov.* se da la dioecia (las flores son funcionalmente unisexuales) y la presentación secundaria del polen. Además, en las especies de *Randia* y en *T. formosa* se observó la reproducción por propagación vegetativa.

A continuación se describen en detalle las diferentes estrategias reproductivas observadas.

UNISEXUALIDAD DE LAS FLORES

En *C. concolor*, *G. americana*, *R. calycina* y *R. sp. nov.* las plantas son dioicas y presentan flores unisexuales que son funcionalmente estaminadas (FFE, Figs. 1; 40 A) y funcionalmente pistiladas (FFP, Fig. 40 B).

- Las FFE presentan estambres fértiles productores de polen. Estas flores presentan un ovario rudimentario, en el que no se desarrollan óvulos y no se producen frutos. El estigma funciona como órgano presentador del polen (Figs. 3 A-F, 4A-E, 5 A-F, 6 A-G, 40 A)
- Las FFP el ovario es pluriovulado y se forman frutos (Figs. 3 G-L, 4 F-K, 5 G-L, 6 H-J, 40 C). Los estambres presentan anteras vacías, que son indehiscentes por lo que aquí el estigma no funciona como presentador de polen. La anatomía de estas flores y la producción de gametas fue detallada ampliamente en los capítulos I, II y III.

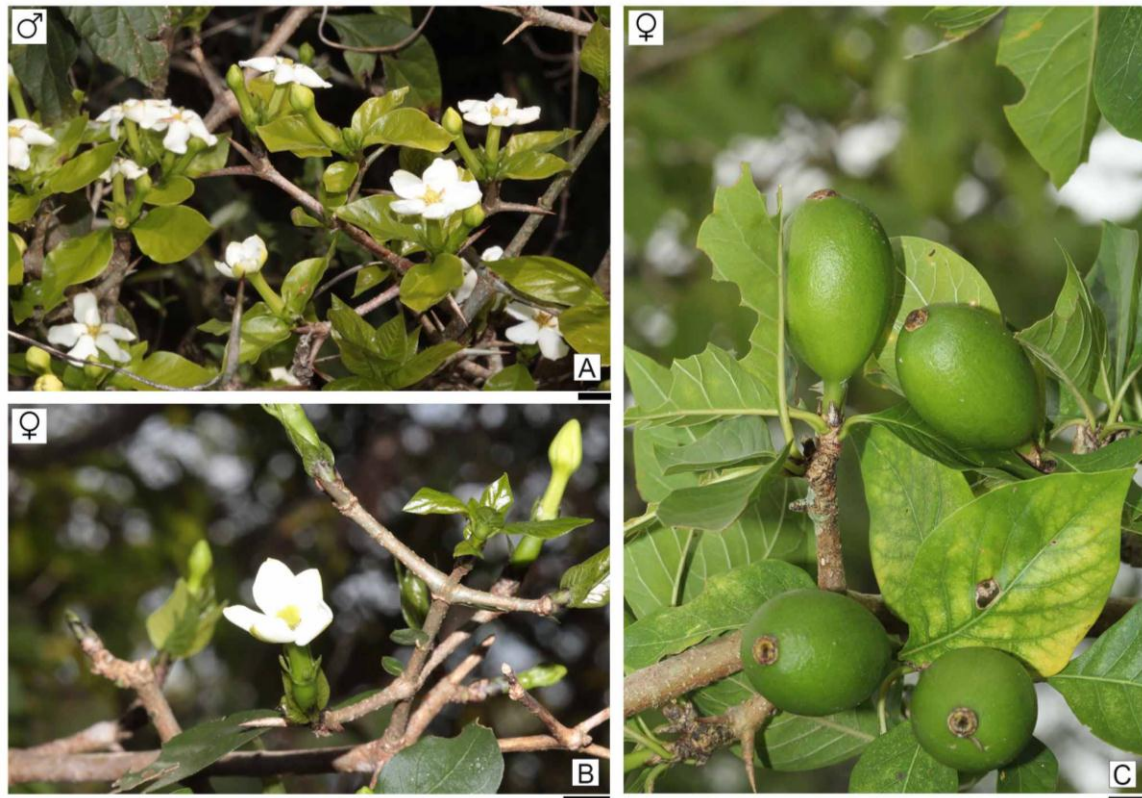


FIGURA 40. UNISEXUALIDAD DE LAS FLORES. A-C. *Randia sp. nov.* A. Planta con FFE. B. Planta con FFP. C. Planta pistilada con frutos. Escalas: 1 cm.

PRESENTACIÓN SECUNDARIA DEL POLEN

Este proceso se da tanto en FP de la especie hermafrodita como en las FFE de las especies dioicas (Fig. 41). En FFE de *C. concolor*, el estigma está reducido, consta de dos pequeñas ramas estigmáticas que pueden estar erectas o plegadas una sobre la otra en forma de gancho (Fig. 3 F). Su superficie tiene surcos suaves. El polen producido en las anteras se deposita principalmente sobre el estilo, en estadio de botón floral previamente a la antesis. El estilo puede presentar pelos cortos en la zona que contacta con las anteras que retienen una parte de los granos de polen junto con los surcos del estilo (Figs. 3 F, 27 G-H), el resto queda en las anteras y es removido por los polinizadores. En *T. formosa*, *G. americana* y ambas especies de *Randia* el órgano presentador es exclusivamente el estigma.

En este mecanismo se reconocen tres etapas principales:

Etapa 1 (botón joven): los lóbulos de la corola están plegados ejerciendo presión sobre los órganos sexuales. Esta presión ocasiona que las anteras, el estilo y el estigma estén en contacto directo. La presión generada por el aumento de volumen de las anteras

durante la macroesporogénesis modifica la superficie de estigma, generando crestas y depresiones que coinciden con la forma y número de tecas (Fig. 41 A, D).

Etapa 2 (pre-antesis y principio de la antesis floral): los lóbulos de la corola empiezan a desplegarse por lo que disminuye la presión hacia el interior del botón (Fig. 41 B, E). Las anteras completan la microgametogénesis y se produce la dehiscencia longitudinal. La carga de polen de cada teca se deposita en los surcos de la superficie del órgano presentador (estigma y estilo) (Fig. 41 C). Como resultado, sobre el estigma se observan 10 paquetes de polen (Fig. 41 G-H). A medida que ocurre la antesis de la flor las anteras se van separando del estilo y estigma.

Etapa 3 (post-antesis floral): las piezas de la corola están totalmente desplegadas y las anteras alejadas del estilo y estigma. El polen depositado en el órgano presentador queda expuesto a los polinizadores (Fig. 41 I-J).

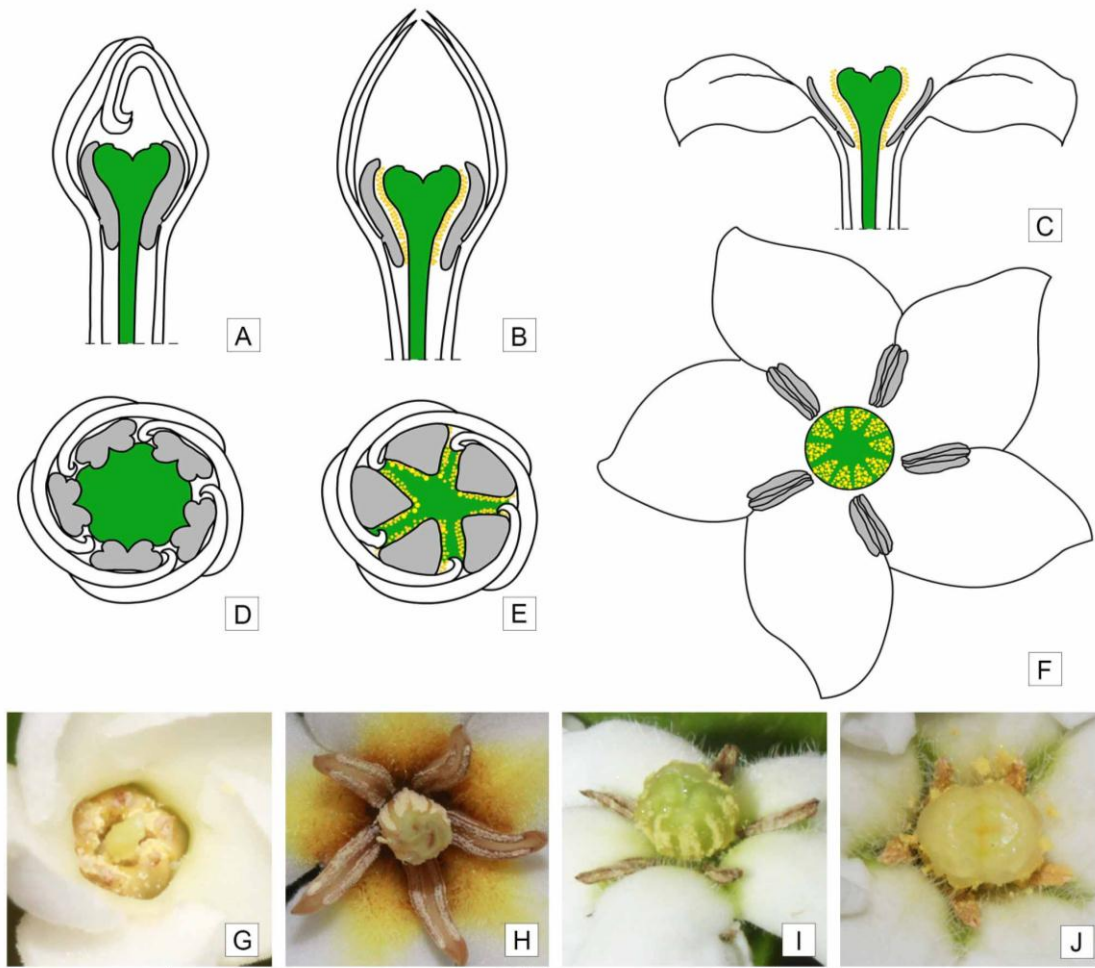


FIGURA 41. PRESENTACIÓN SECUNDARIA DEL POLEN EN LAS FFE. A, D. Botón joven. **B, E.** Botón pre-antesis. **C, F.** Flor abierta. **A-C.** Vista lateral. **D-F.** Vista superficial. **G-J.** Vista superficial de la flor en antesis donde se observa el polen depositado en el órgano presentador. **G.** *C. concolor*. **H.** *G. americana*. **I.** *R. calycina*. **J.** *R. sp. nov.* **Referencias:** anteras en gris, polen en amarillo, estigma en verde. **Escala:** G-J= 1 µm.

PROTANDRIA

La protandria ocurre solo en la especie con flores perfectas *T. formosa* (Figs. 2, 42). En ésta se reconocen dos estados biológicos. El primero comienza en el botón previa antesis y continúa cuando la flor está en antesis, corresponde al estado biológico estaminado (♂).

La protandria en el período ♂ ocurre simultáneamente con el mecanismo de presentación secundaria del polen. En el botón pre-antesis las ramas estigmáticas están plegadas y las anteras depositan el polen en los surcos de la superficie externa del estigma (Fig. 42 A). Durante la antesis de la flor, el estigma con el polen depositado en su superficie externa queda expuesto a los polinizadores, quienes recogen el polen y lo transportan a otras flores. Las ramas estigmáticas comienzan a separarse entre sí (Fig. 42 B). Cuando el estigma tiene los lóbulos completamente desplegados, ya no hay polen de la propia flor (Fig. 42 C). Se completa la separación de las ramas estigmáticas quedando expuesta la superficie interna del estigma y se considera que la flor es biológicamente pistilada (♀) (Figs. 42 D).

Junto con el cambio de estado biológico (♂ → ♀) se observa un leve cambio en la coloración de la cara interna de la corola, pasando del color blanco-amarillento durante el estado estaminado ♂ (Figs. 2 B-C, 42 A-C) al color ligeramente amarronado durante el estado pistilado (Figs. 2 A, 42 D-E). Cuando el estigma empieza a senescer, la corola está completamente marchita (Fig. 42 F).

Las pruebas de receptividad estigmática realizadas no fueron concluyentes en determinar si las caras externas e internas de los lóbulos del estigma son receptivas en cada etapa de la flor, ya que los granos de polen adheridos a la cara externa del estigma reaccionan positivamente al H₂O₂, del mismo modo que la cara interna. Sin embargo, la presencia de una epidermis especializada en la cara interna de las ramas estigmáticas, continuación del tejido de transmisión, permite inferir que esta cara es la superficie receptiva del estigma (Capítulo III).

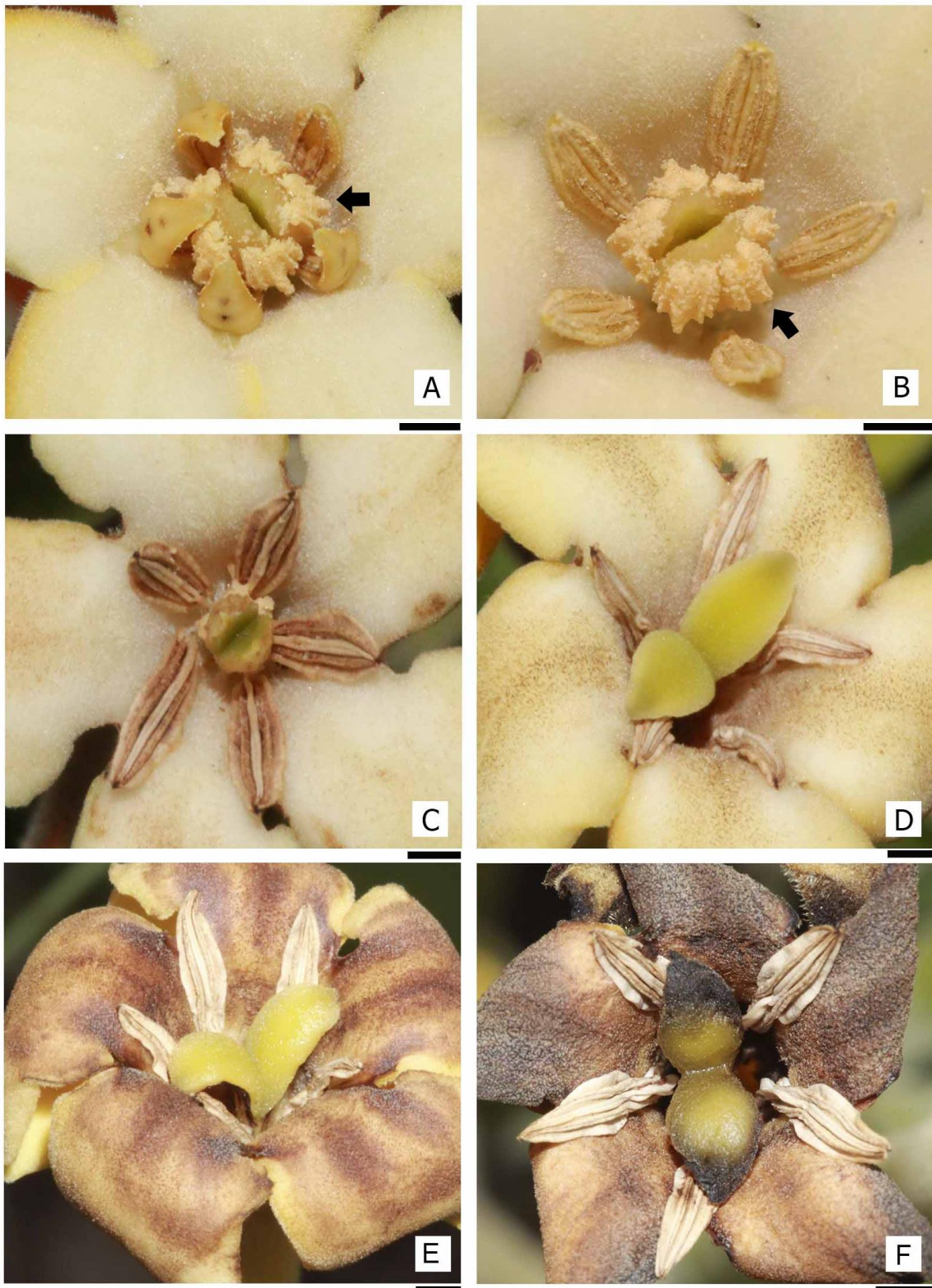


FIGURA 42. ESTADIOS DE PROTANDRIA EN *T. FORMOSA*. A-B. Flor en estado estaminado ♂, los lóbulos del estigma están cerrados y el polen de las anteras se encuentra depositado en su superficie externa. C. Flor con la corola completamente desplegada, los polinizadores han removido el polen del estigma. D. Flor en estado pistilado ♀, con la corola que empieza a virar de color, los lóbulos del estigma se separan exponiendo la superficie interna. E. Flor con pétalos oscurecidos. F. Flor con pétalos marchitos, estigma empieza a marchitarse. **Escala:** 2 mm.

PROPAGACIÓN VEGETATIVA

Durante el trabajo de colecta de material se pudo corroborar que ambas especies de *Randia* y *T. formosa* presentan propagación vegetativa (Fig. 43). Las plantas adultas se encuentran rodeadas de plantas más pequeñas conectadas a éstas por medio de rizomas. En *Randia*, en general se observaron más clones alrededor de las plantas estaminadas que de las plantas pistiladas.

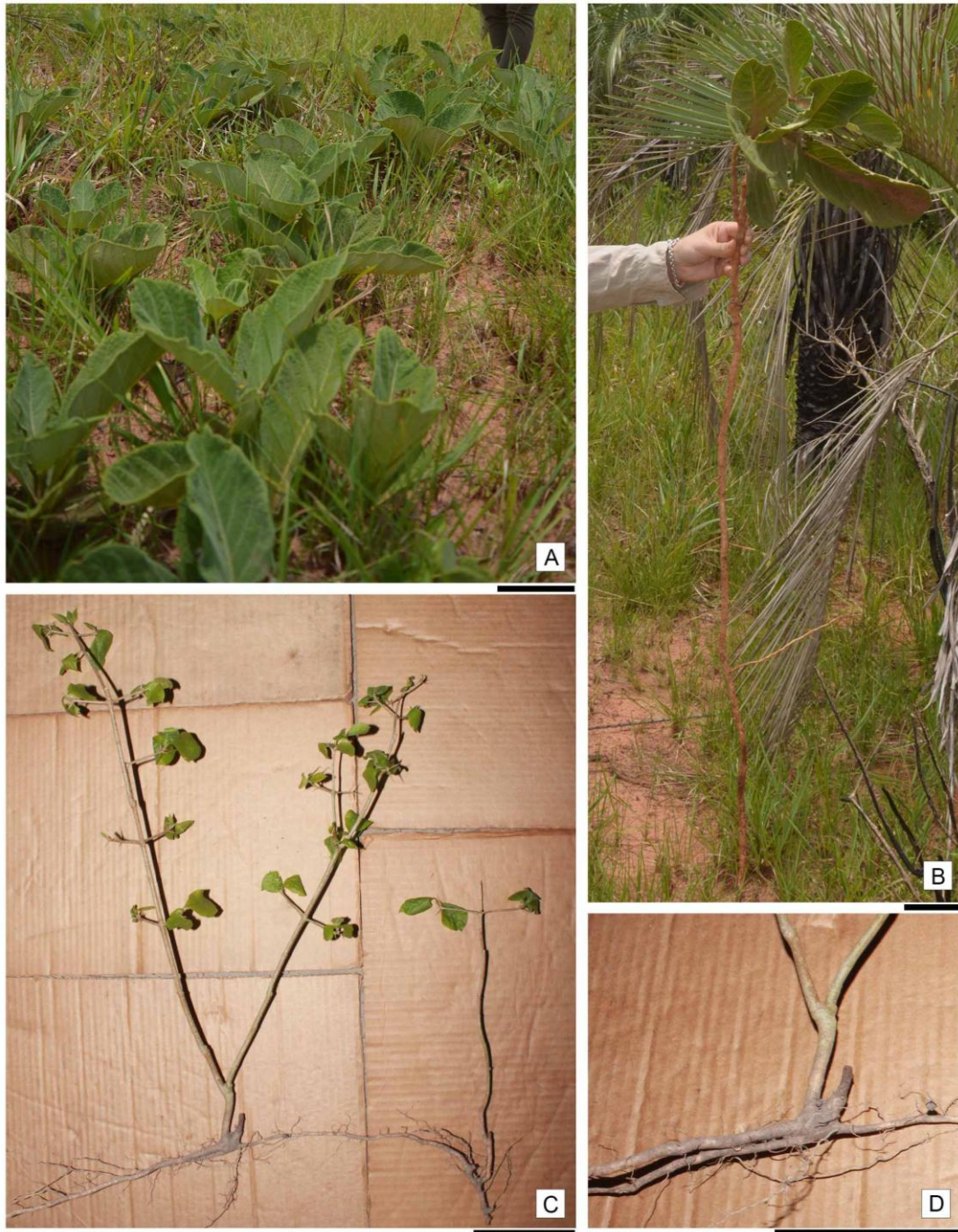


FIGURA 43. PROPAGACIÓN VEGETATIVA. A-B. *T. formosa*. A. Secuencia de plantas conectadas. B. Planta con rizoma. C-D. *R. sp. nov.* C. Dos plantas conectadas por medio de un rizoma. D. Detalle del rizoma. Escalas: 10 cm.

DISCUSIÓN

En las especies analizadas de la tribu *Gardenieae* ocurren de manera simultánea varias estrategias reproductivas. Estos mecanismos, asociados a la flor, favorecen la fecundación cruzada y coinciden con las descritas por Hallé (1967) para la tribu *Gardenieae*.

En *C. concolor*, *G. americana*, *R. calycina* y *R. sp. nov.* se da la unisexualidad de las flores y la presentación secundaria del polen en las FFE, cuyo órgano presentador es el estilo, principalmente para *C. concolor*, o el estigma para el resto de las especies analizadas. Por otro lado, en *T. formosa*, se combinan la protandria y la presentación estigmática del polen.

Robbrecht (1988) menciona que la distribución de los mecanismos florales es relativamente constante entre las tribus de las diferentes subfamilias de *Rubiaceae*, siendo la heterostilia y la polinización por viento más frecuente en las tribus de *Rubioideae*, la presentación estilar del polen en *Ixoroideae* y este mecanismo, además de la heterostilia, en *Cinchonoideae*. Sin embargo, pueden haber excepciones, como en *Ferdinandusa speciosa* (tribu *Cinchonoideae*) que presenta protandria (Castro & Oliverira, 2001).

UNISEXUALIDAD DE LAS FLORES

En plantas con flores unisexuales, las flores pistiladas y estaminadas pueden ser similares entre ellas o muy diferentes (Pacini, 1996). En estudios pasados de la tribu *Gardenieae*, el dimorfismo sexual pronunciado ha llevado a la separación incorrecta de individuos pistilados y estaminados en diferentes géneros (Robbrecht, 1988). Sin embargo en las especies analizadas en el presente trabajo, las flores presentan gran similitud morfológica. Mayer & Charlesworth (1991) definieron el término “**dioecia críptica o funcional**” como un sistema de reproducción que tienen los morfos unisexuales, en los cuales uno o ambos morfos aparentan ser hermafroditas, reteniendo órganos no funcionales, como gineceo en flores funcionalmente estaminadas y androceo en las flores funcionalmente pistiladas. Teniendo en cuenta este tipo de dioecia, las especies *C. concolor*, *G. americana*, *R. calycina* y *R. sp. nov.* presentan individuos con flores unisexuales de dos tipos: funcionalmente pistiladas con estambres estériles y funcionalmente estaminadas con un pistilodio.

Hallé (1967) menciona que *G. americana* no es considerada una especie dioica en el tratamiento de la flora de Surinam (Pulle, 1934), probablemente debido a la gran similitud morfológica entre los dos tipos de flores. Sin embargo, las observaciones realizadas en

campo y laboratorio en la presente tesis confirman la unisexualidad de las flores en esta especie. Si bien las flores funcionalmente estaminadas presentan un ovario muy similar en cuanto a forma y tamaño al de las flores funcionalmente pistiladas, existen características que las diferencian a simple vista. Las flores estaminadas se disponen en inflorescencias multifloras, mientras que las flores pistiladas se disponen en inflorescencia 1-floras. Además, las plantas con flores funcionalmente pistiladas siempre portan frutos. Esta observación es importante ya que en *Gardenieae* generalmente los frutos tienen un crecimiento y maduración lentos, llegando en ocasiones a completarse entre los 6-12 meses, por lo que es habitual ver frutos inmaduros en partes viejas y sin hojas de algunas plantas como *Schumanniphyton*, *Rothmannia* y *Genipa* (Hallé, 1967). En las plantas con flores funcionalmente pistiladas de *G. americana* y *Randia* siempre se observaron frutos en diferentes estadios de diferenciación.

PRESENTACIÓN SECUNDARIA DEL POLEN

En este mecanismo el polen es presentado en una estructura diferente de la antera como el estilo o el estigma (Imbert & Richards, 1993). Este tipo de estrategia reproductiva es común en la tribu y en la familia (Hallé, 1967; Howell *et al.*, 1993; Yeo, 1993; Robbrecht, 1988) ocurriendo principalmente en la subfamilia *Ixoroideae* (Bremekamp, 1966; Puff *et al.*, 1995).

Genipa americana y las dos especies analizadas de *Randia*, al igual que en *T. formosa*, presentan el polen en el estigma, pero con la diferencia de que en las primeras este órgano es no funcional. En *C. concolor* el órgano presentador es el estilo, que presenta una superficie con surcos y pelos que retienen el polen.

A diferencia de las primeras especies en las que el contenido completo de las anteras se deposita en el estigma, en *C. concolor* solo una parte es retenida, esto ocurre porque la superficie total del estilo es menor que la superficie total de las anteras que contacta con éste. Mouly *et al.* (2014) propone una nueva circunscripción para *Gardenieae*, reconociendo el grupo *Alibertia* a nivel tribal, como *Cordiereae*, y menciona como una de las características que definen a esta tribu la ausencia de presentación secundaria del polen. En el presente estudio, se observó que *C. concolor* presenta esta estrategia reproductiva, siendo el estilo el órgano presentador del polen.

La presentación secundaria del polen en *T. formosa* forma parte de un mecanismo de reproducción más complejo, en el que se combina con la protandria. Según Bremekamp (1966) esta combinación de mecanismos se da en *Gardenieae* y tribus relacionadas y tiene

mayor importancia taxonómica que otros mecanismos. De Block & Igersheim (2001) han descrito en detalle la base anatómica de dicha combinación de mecanismos en las especies de los géneros *Rutidea* y *Nichaella* (tribu Pavettea).

Por otro lado, Puff *et al.* (1996) menciona que la presentación secundaria del polen se da en las tres subfamilias y reconoce cuatro tipos:

- 1) deposición del polen solo en el estilo,
- 2) deposición del polen en el estilo y en la superficie externa del estigma,
- 3) deposición del polen en la superficie externa del estigma, y
- 4) deposición del polen parcialmente o en gran parte en la superficie interna del estigma.

Por lo observado, en *C. concolor* se da el tipo 2, mientras que en el resto de las especies ocurre el tipo 3 de presentación secundaria del polen.

PROTANDRIA

De las especies analizadas solo *Tocoyena formosa* presentó protandria. La protandria es uno de los mecanismos clásicos por el cual es asegurada la fecundación cruzada en las especies con flores hermafroditas ya que reduce la interferencia entre los órganos con función pistilada y con función estaminada (Hallé, 1967).

Este mecanismo es común en Rubiaceae (Anderson, 1973) y está asociado con la presentación secundaria del polen en las flores isostilas de la subfamilia Ixoroideae (Raju & Rao, 2016; Raju & Radhakrishna, 2017), como es el caso de *T. formosa*. Un caso bien estudiado de protandria en Rubiaceae se da en *Cephalanthus occidentalis* (tribu Naucleaeae), en esta especie se combinan la protandria y la presentación secundaria, a diferencia de lo que ocurre en *T. formosa*, en *C. occidentalis* el polen se deposita en la superficie del estigma que va a ser receptiva (Imbert & Richards, 1993).

PROPAGACIÓN VEGETATIVA

La propagación vegetativa puede darse en condiciones naturales a través de tallos rastreros, estolones, rizomas o raíces, representando una estrategia efectiva cuando las condiciones de reproducción sexual son difíciles en ecosistemas con algún tipo de estrés (Cambronero & Stéfano, 2006). Cuando los brotes se establecen pueden formar unidades independientes denominadas rametes (Alpert, 1996).

Las poblaciones de plantas dioicas están compuestas por dos morfotipos sexuales, implicando la dependencia de vectores de polen para la reproducción sexual (Benevides *et al.*, 2015). Según este autor, la habilidad de la reproducción vegetativa es una característica

ecológica comúnmente asociada con la dioecia. Este mecanismo de reproducción se observó en *T. formosa* (plantas hermafroditas) y las dos especies de *Randia* estudiadas (dioicas).

En general, en las observaciones de campo se encontraron más plantas de *Randia* con FFE que plantas con FFP. Esta desproporción fue mencionada también por Benevides *et al.* (2015) en otras Angiospermas dioicas (*Clusia criuva*, *C. lanceolata*, *Garcinia brasiliensis*, *Myrsine parviflora*, *Ocotea notate* y *Tapirira guianensis*) en las que ocurre propagación vegetativa y se producen ramets. Dichos autores asignan la mayor proporción de individuos con flores estaminadas a la mayor capacidad de éstos para propagarse vegetativamente. Además, sugieren que la reproducción asexual de los individuos con flores estaminadas aumentarían la cantidad de recursos florales, visitas de polinizadores y flujo de polen.

La propagación vegetativa se ha descrito en otras Rubiáceas arbóreas. Un ejemplo es *Warszewiczia uxpanapensis* (tribu Rondeletieae), especie en la que la propagación vegetativa se puede dar naturalmente por rebrote de ramas o troncos caídos, e incluso de ramas adheridas a los árboles que producen raíces adventicias (Cambronero & Stéfano, 2006). Además, se ha descrito la presencia de rizomas en el género *Larsenaikia* de la tribu *Gardenieae* (Tirvengadam, 1993).

Son necesarias más observaciones en *C. concolor* y en *G. americana* para determinar si en estas especies también ocurre la propagación vegetativa.

BIBLIOGRAFÍA

- Alpert, A. 1996.** Nutrient sharing in natural clonal fragments of *Fragaria chiloensis*. *J. Ecol.* 84: 395–406.
- Anderson WR. 1973.** A morphological hypothesis for the origin of heterostily in the Rubiaceae. *Taxon* 22 (5/6): 537–542.
- Benevides CR, Rodarte ATA & de Lima HA. 2015.** Vegetative propagation as a successful reproductive strategy in woody dioecious species in tropical coastal vegetation, southeast Brazil. *Braz. J. Bot.* (38): 579–584.
- Bremekamp CEB. 1966.** Remarks on the position, the delimitation and the subdivision of the Rubiaceae. *Acta Bot. Neerl.* 15, 1–33
- Cambronero LB & JF Stéfano. 2006.** Posible influencia de los rametes en la estructura poblacional y distribución del árbol gigante *Warszewiczia uxpanapensis*, Cordillera de Tilarán, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 54 (4): 1179–1188.
- Castro CC & PEAM Oliveira. 2001.** Reproductive biology of the protandrous *Ferdinandusa speciosa* Pohl (Rubiaceae) in southeastern Brazil. *Rev. Brasil. Bot.* 24(2): 167–172.
- Castro CC, Oliveira PEAM & RMM Pimentel. 2008.** Reproductive biology of the herkogamous vine *Chiococca alba* (L.) Hitchc. (Rubiaceae) in the Atlantic Rain Forest, SE Brazil. *Rev. Brasil. Bot.* 31(2):317–321.
- De Block P & A Igershein. 2001.** Stigma of the African Genera *Rutidea* and *Nichallea* (Rubiaceae-Ixoroideae-Pavetteae): highly modified receptive surfaces. *Int. J. Pl. Sc.* 162: 567–578.
- Endress PK. 1994.** Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press. ISBN 0521 420881, 420 p.
- Hallé F. 1967.** Étude biologique et morphologique de la tribu des Gardéniées (Rubiaceae). *Mém. O.R.S.T.O.M.* 22: 146.
- Howell GJ, AT Slater & RB Knox. 1993.** Secondary pollen presentation in Angiosperms and its Biological Significance. *Aust. J. Bot.* 41: 417–438.
- Imbert FM & JH Richards. 1993.** Protandry, incompatibility, and secondary pollen presentation in *Cephalanthus occidentalis* (Rubiaceae). *Amer. J. Botany* 80(4): 395–404.
- Mayer SS & D Charlesworth. 1991.** Cryptic dioecy in flowering plants. *Trends Ecol. Evol.* 6: 320–325.

- McDade LA. 1986.** Protandry, synchronized flowering and sequential phenotypic unisexuality in neotropical *Pentagonia macrophylla* (Rubiaceae). *Oecologia* (Berlin), 68: 218–223.
- Mouly A, K Kainulainen, C Persson, AP Davis, KM Wong, SG Razafimandimbison & B Bremer. 2014.** Phylogenetic structure and clade circumscriptions in the Gardenieae complex (Rubiaceae). *Taxon* 63(4): 801–818.
- Pacini E. 1996.** Reproductive strategies in dioecious plants. *Giornale Botanico Italiano*, 130(1): 68–72.
- Puff C, E Robbrecht, R Buchner & P De Block. 1996.** A survey of secondary pollen presentation in the Rubiaceae. *Opera Bot. Belg.* 7: 369–402.
- Pulle A. 1934.** Flora of Surinam (Dutch Guyana). Vol. IV: Rubiaceae-Ericaceae-Campanulaceae. Koninklijke vereniging indisch Instituut, Amsterdam, pp. 113–304.
- Queiroz Souza C, Araujo DFD, Silveira M & Ramos RF. 2015.** Morfologia e biologia floral de *Genipa americana* L. em Lençóis, Chapada Diamantina, Bahia. 92–104. En: BF Viana & FO da Silva, eds. Biologia e Ecologia da Polinização - Contribuições dos Cursos de Campo. Série Cursos de campo, vol 4. Rio de Janeiro.
- Raju AJS & J Radhakrishna. 2017.** Contribution to the knowledge of three Indian Spermaceae L.(Rubiaceae) and some preliminary information about their pollination ecology. *Anales de Biología* 39: 111-126.
- Raju AJS & MM Rao. 2016.** Flowering phenology, breeding system, pollinators and fruiting behaviour of *Pavetta tomentosa* (Rubiaceae) Roxb. Ex Sm., a keystone shrub species in the southern eastern ghats forest, Andhra Pradesh, India. *Ann. Bot. (Roma)* 6: 85–96.
- Robbrecht E. 1988.** Tropical woody Rubiaceae. *Opera Bot. Belg.* 1: 1–271.
- Tirvengadam DD. 1993.** *Larsenaikia*, a new genus of the Rubiaceae from Australia. *Nord. J. Bot.* 13: 175-184.
- Weberling F. 1989.** Morphology of flowers and inflorescences. - Cambridge University Press, Cambridge. 405 p. ISBN 0-521-25134-6.
- Yeo P. 1993.** Secondary pollen presentation: form, function and evolution. *Pl. Syst. Evol. Suppl.* 6: 1–268.
- Zappi DC, Semir J & NI Pierozzi. 1995.** *Genipa infundibuliformis* sp. nov. and notes on *Genipa americana* (Rubiaceae). *Kew Bulletin* 50 (4): 761–771.

Capítulo V: Morfología del fruto en las especies de *Gardenieae*.

Anatomía y diferenciación del fruto en *Cordia concolor*

INTRODUCCIÓN

La familia Rubiaceae cuenta con gran variabilidad de frutos, abarcando desde secos a carnosos, en los que la naturaleza del mesocarpo y del endocarpo determinan diversos tipos de frutos: cápsulas, nueces, drupas o bayas (Robbrecht, 1988; Bremer & Eriksson, 1992).

Robbrecht (1988) utilizó caracteres carpológicos para realizar clasificaciones dentro de la familia Rubiaceae. Particularmente en la subfamilia Ixoroideae, algunas tribus fueron delimitadas parcialmente en base a características de los frutos ya que éstos pueden ser drupas o bayas (Robbrecht & Puff, 1986; Bremer & Eriksson, 1992). En esta subfamilia, los frutos de géneros de la tribu *Gardenieae* pueden ser bayas típicas de diferentes colores o cápsulas secas (Hallé, 1967). En la tribu *Gardenieae* hay un tipo particular denominado “frutos de *Gardenia*” (Robbrecht & Puff, 1986; Eriksson & Bremer, 1991; Bremer & Eriksson, 1992), y se caracterizan por presentar endocarpo y mesocarpo coriáceos, fibrosos o leñosos, con las semillas embebidas en una pulpa de origen placentario y jugosa o carnosa a la madurez. El exocarpo a la madurez puede ser de color gris o marrón, a veces con lenticelas; o puede ser de color amarillo, naranja o rojo violáceo y atraer a pájaros y pequeños mamíferos (Hallé, 1967).

En las Rubiaceae generalmente los frutos presentan formas simples: esféricos, elipsoides, ovoides u obovoides. Son comunes los frutos de color rojo, amarillo, naranja o negruzco. En esta familia los géneros con frutos de longitudes mayores a los 5 cm son raros y se encuentran principalmente en la tribu *Gardenieae* (Robbrecht, 1988), entre ellos se destaca el género africano *Rothmannia* con frutos que alcanzan los 15-20 cm (Hallé, 1967).

Los frutos de las *Gardenieae* se destacan porque tienen diferentes utilidades (Hallé, 1967), el pericarpo se puede consumir (*Atractogyne*, *Gardenia*, *Posoqueria*, *Euclinia*, *Rothmannia*, *Genipa*, *Sherbournia*, etc.), el tejido placentario se usa como tinte azul oscuro

(*Genipa*, en América) o negro (*Rothmannia*, África Tropical). Además, en África Occidental el endocarpo leñoso de *Gardenia imperialis* se utiliza como cuchara.

ESTE CAPÍTULO TIENE COMO OBJETIVOS

- 1) Describir la morfología del fruto de las especies analizadas,
- 2) Documentar la diferenciación del fruto de *C. concolor*, y
- 3) Establecer el origen del tejido gelatinoso que rodea a las semillas en el fruto maduro de *C. concolor*.

RESULTADOS

MORFOLOGÍA DE LOS FRUTOS EN LAS ESPECIES ANALIZADAS DE GARDENIEAE

En las especies analizadas los frutos se producen en las plantas de la especie hermafrodita *Tocoyena formosa* y en las plantas con FFP de las especies dioicas *Cordia concolor*, *Genipa americana* y *Randia spp.*

Los frutos en todas las especies son de tipo baya de ovario ínfero (Fig. 44). Son multiseminados (1-8 semillas en *C. concolor*) y presentan una pulpa gelatinosa de color marrón-negruzco (parda en *G. americana*) que envuelven a las semillas.

En *T. formosa* es globoso o subgloboso de hasta 3 cm, de color amarillento, glabro. En *C. concolor* es globoso de hasta 1 cm de diámetro, de color violeta-negruzco y pubérulo. En *G. americana* es globoso o elipsoide de hasta 6 cm de diámetro, de color pardo-grisáceo y glabro. En *R. calycina* es elipsoide de hasta 3,5 cm de longitud y 1,9 cm de diámetro, grisáceo y con lenticelas, pubérulo. En *R. sp. nov.* es obovoide o globoso de hasta 2,7 cm de longitud y 1,7 cm de diámetro, de color amarillo y glabro.

Dado el tamaño de los frutos, el estudio de la anatomía y diferenciación del fruto se realizó únicamente en la especie *C. concolor*, que posee los frutos más pequeños entre las especies analizadas de la tribu.

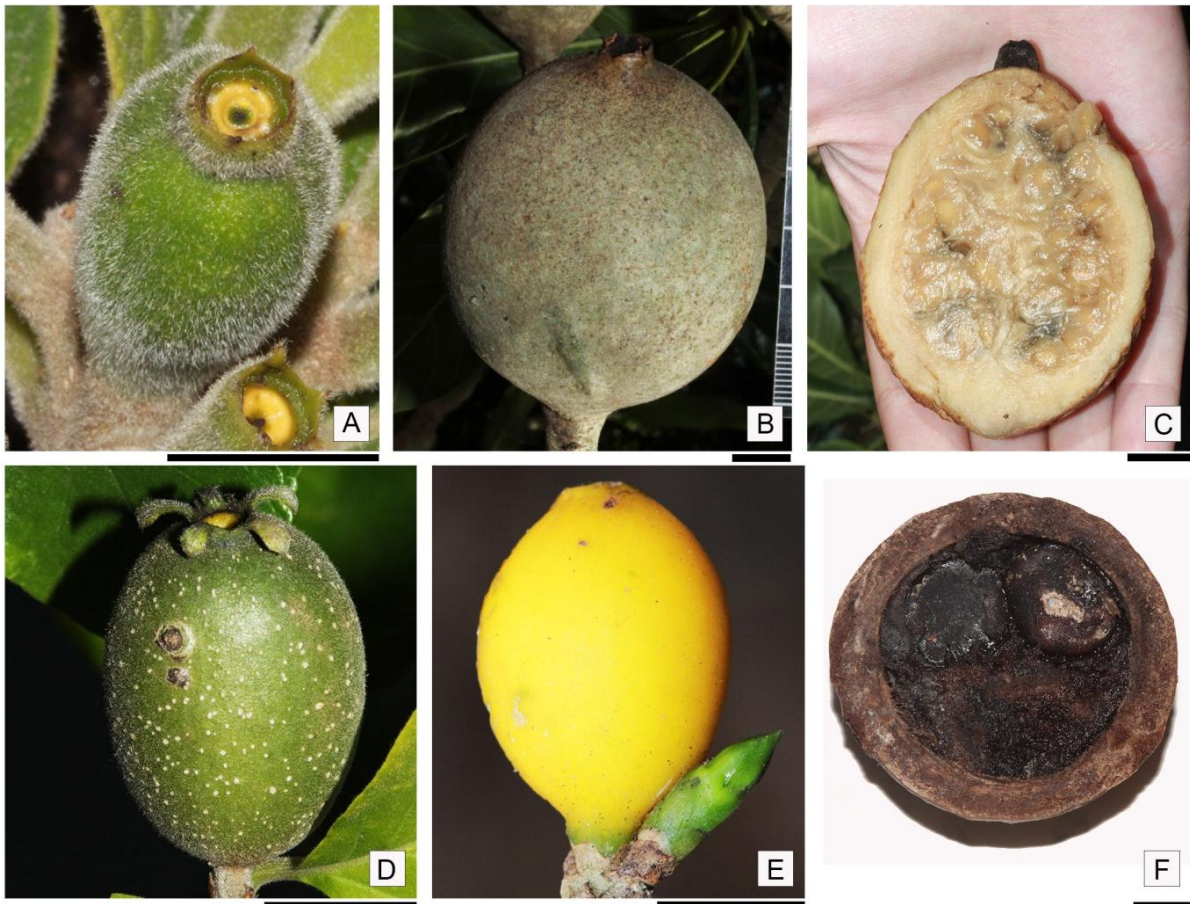


FIGURA 44. FRUTOS DE LAS ESPECIES ANALIZADAS DE GARDENIEAE. **A.** Fruto inmaduro de *T. formosa*. **B-C.** Fruto maduro de *G. americana*. **B.** Vista superficial. **C.** Corte longitudinal. **D.** Fruto inmaduro de *R. calycina*, note las lenticelas blanquecinas. **E-F.** Fruto maduro de *R. sp. nov.* **E.** Vista superficial de fruto fresco. **F.** Corte transversal, material fijado. **Escala:** 1 cm.

ANATOMÍA Y DIFERENCIACIÓN DEL FRUTO DE *C. CONCOLOR*

El fruto de *C. concolor* es globoso, carnosos e indehiscente (Fig. 45 A). Presenta color negruzco a la madurez y tiene un diámetro de 7,0 a 1,2 mm. La cáscara del fruto es lisa y coriácea. La pulpa es de color marrón-negruzco, de aspecto gelatinoso y en ella se encuentran inmersas las semillas (Fig. 45 B). Partiendo de la estructura del ovario, se realizó la descripción anatómica del fruto en tres estadios de diferenciación: fruto inmaduro, intermedio y maduro (Figs. 46 y 47).

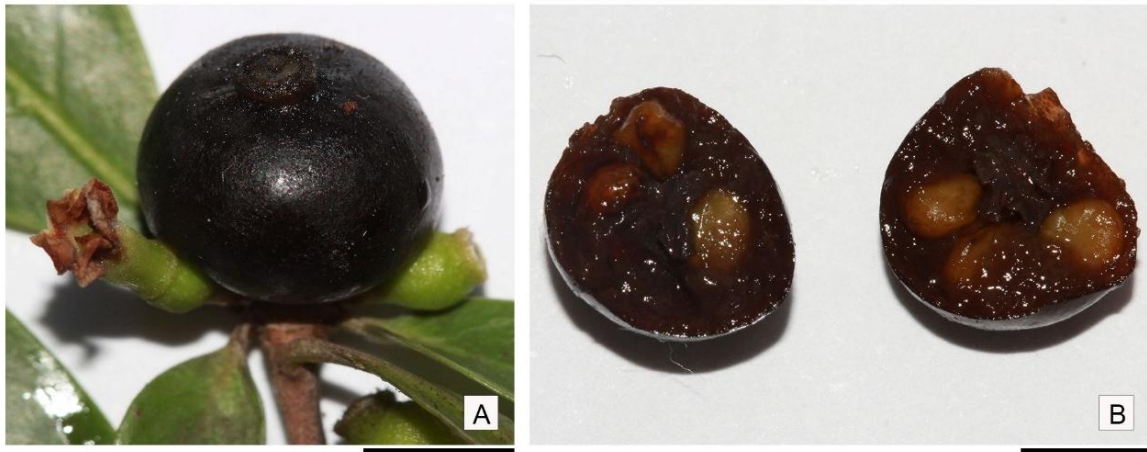


FIGURA 45. MORFOLOGÍA DEL FRUTO MADURO DE *C. CONCOLOR* (material fresco). **A.** Vista superficial. **B.** Corte transversal en el que se pueden observar las semillas inmersas en la pulpa. **Escala:** 5 mm.

Ovario (Fig. 46 A, C, E)

Es ínfero, bicarpelar y se encuentra rodeado por los restantes antófilos soldados en un tubo floral. Presenta placentación axilar difusa con dos placentas que ocupan todo el volumen de los lóculos. El septo está formado por células parenquimáticas de contorno circular, hay taninos y drusas. Presenta 5-7 óvulos inmersos en cada placenta.

Anatómicamente la pared del ovario está formada por:

- epidermis externa, constituida por células cuadrangulares a rectangulares, estomas y pelos unicelulares lignificados;
- mesófilo, en el que se distinguen dos zonas, una externa vascularizada, que ocupa prácticamente todo el espesor del mesófilo y está formada por células poligonales; y una zona interna formada por unos pocos estratos de células alargadas, dispuestas periclinamente alrededor de los lóculos, esta zona no tiene haces vasculares. Los haces vasculares externos corresponden al tubo floral y los haces internos corresponden a los carpelos;
- epidermis interna, formada por células rectangulares de menor tamaño que las de la epidermis externa.

Fruto inmaduro (Fig. 46 B, D, F)

Presentan color verde-amarillento, pudiendo encontrarse regiones con una coloración rojiza. En los primeros estadios de diferenciación del fruto las células epidérmicas externas aumentan de volumen anticlinalmente y el citoplasma se vuelve más denso. La cutícula aumenta de espesor. En el fruto inmaduro continúan bien delimitadas las dos zonas descritas en el ovario, correspondientes al mesocarpo en proceso de diferenciación. En la zona externa, en transcorte las células son circulares a poligonales y hay gran cantidad de células con taninos y drusas, además de haces vasculares colaterales. En cambio, en la zona interna las células son alargadas radialmente en dirección al lóculo, no se observan haces vasculares y hay pocas células con tanino en comparación con la capa externa. En ambas zonas, principalmente las de la parte externa, las células almacenan granos de almidón. La epidermis interna de los carpelos está formada por una capa de células de contorno rectangular, con paredes delgadas.

El aumento de tamaño y crecimiento radial de la zona interna del mesocarpo junto con la epidermis interna forman protrusiones que crecen en dirección a los lóculos, proyectándose entre las semillas en formación, este tejido llega a contactarse con las placentas.

Placentas y tabique: en este estadio empieza a observarse que debido al crecimiento de las semillas, las semillas sobrepasan a la placenta. El tabique entre las placentas presenta epidermis y parénquima compacto con células pequeñas, hay haces, taninos y drusas.

Fruto intermedio (Fig. 47 A, C, E)

Son amarillos a rojizos. Morfológicamente son globosos y de consistencia firme. Las células epidérmicas presentan paredes de mayor espesor que en el estadio anterior. La cutícula es más notoria. En el mesocarpo, tanto las células de la región externa como de la región interna aumentan de volumen lo que lleva al aumento de tamaño del fruto. La epidermis interna presentan células cuyas paredes son de mayor espesor que en el estadio anterior.

Placenta y tabique: las semillas aumentan considerablemente de tamaño por lo que la placenta se ve comparativamente más reducida, quedando restringida solo la base de las semillas. Las células del tabique pierden volumen, por lo que éste se observa más delgado.

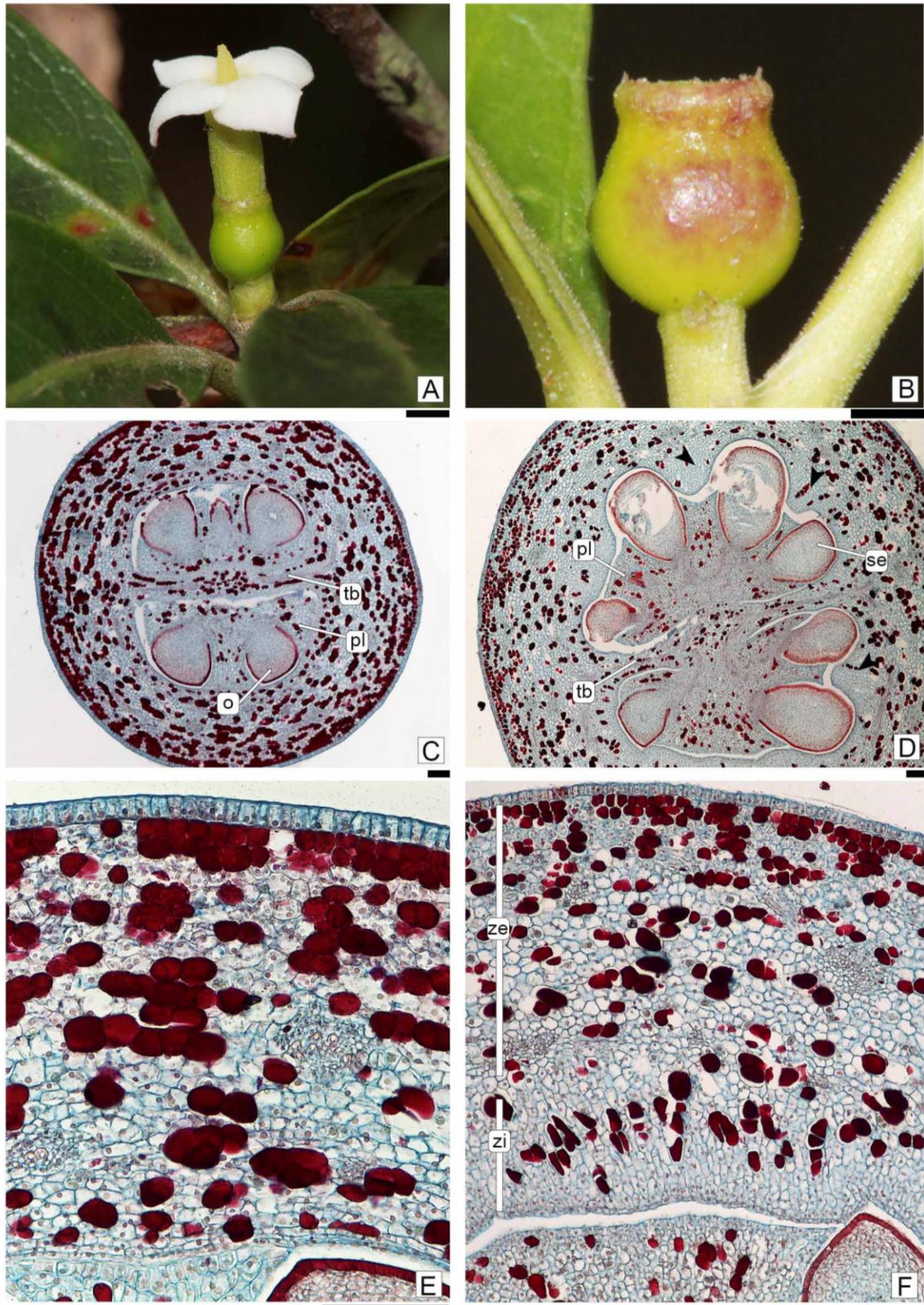


FIGURA 46. FLOR (A, C, E) Y FRUTO INMADURO (B, D, F) DE *C. CONCOLOR*. A-B. Vista superficial. **C-D.** Corte transversal. **E-F.** Detalle de la pared en transcorte. **Referencias:** o= óvulo, pl= placenta, se= semilla, tb= tabique, zi= zona interna del mesocarpo, ze= zona externa del mesocarpo. **Escala:** A-B= 1 mm, C-F= 50 μ m.

Fruto maduro (Figs. 45 A-B; 47 B, D, F)

Es negruzco y presenta forma globosa.

Exocarpo: en el fruto completamente maduro la “piel” o exocarpo en sentido amplio queda constituido por la epidermis y 2-4 capas subepidérmicas de células con taninos. Tanto las células epidérmicas como las subepidérmicas presentan las paredes engrosadas. La epidermis está cubierta por la cutícula conspicuamente gruesa, y permanecen los tricomas simples unicelulares.

Mesocarpo: las células de ambas regiones del mesófilo adquieren mayor volumen. Las paredes celulares se observan más delgadas.

Endocarpo: está formado por las células de la epidermis interna, algunas de estas células pueden estar colapsadas, no tienen diferenciación ulterior.

Placenta y tabique: la placenta se retrae debido al colapso de sus células y al aumento de tamaño de las semillas que llenan el espacio locular. Las células del tabique pierden su forma y se observan idioblastos con taninos fragmentados.

La pulpa del fruto maduro resulta ser un tejido laxo, formado principalmente por el mesocarpo interno, cuyas células se encuentran colapsadas, y en menor medida por la placenta. Además, los espacios que quedan entre las semillas y los tejidos del fruto se llenan con jugo.

HISTOQUÍMICA DEL FRUTO EN LOS TRES ESTADIOS DE DIFERENCIACIÓN

Las pruebas histoquímicas se realizaron con Lugol para la identificación de almidón y Sudán III para sustancias grasas. A medida que el fruto se desarrolla, se mantiene la cantidad de almidón en forma de granos simples. El Lugol dio positivo en las células de las dos regiones del mesocarpo (Fig. 48 A-F), presentando mayor contenido de granos de almidón las células que pertenecen a la región externa del mismo. El Sudán III, fue positivo únicamente en la cutícula (Fig. 48 G-I).

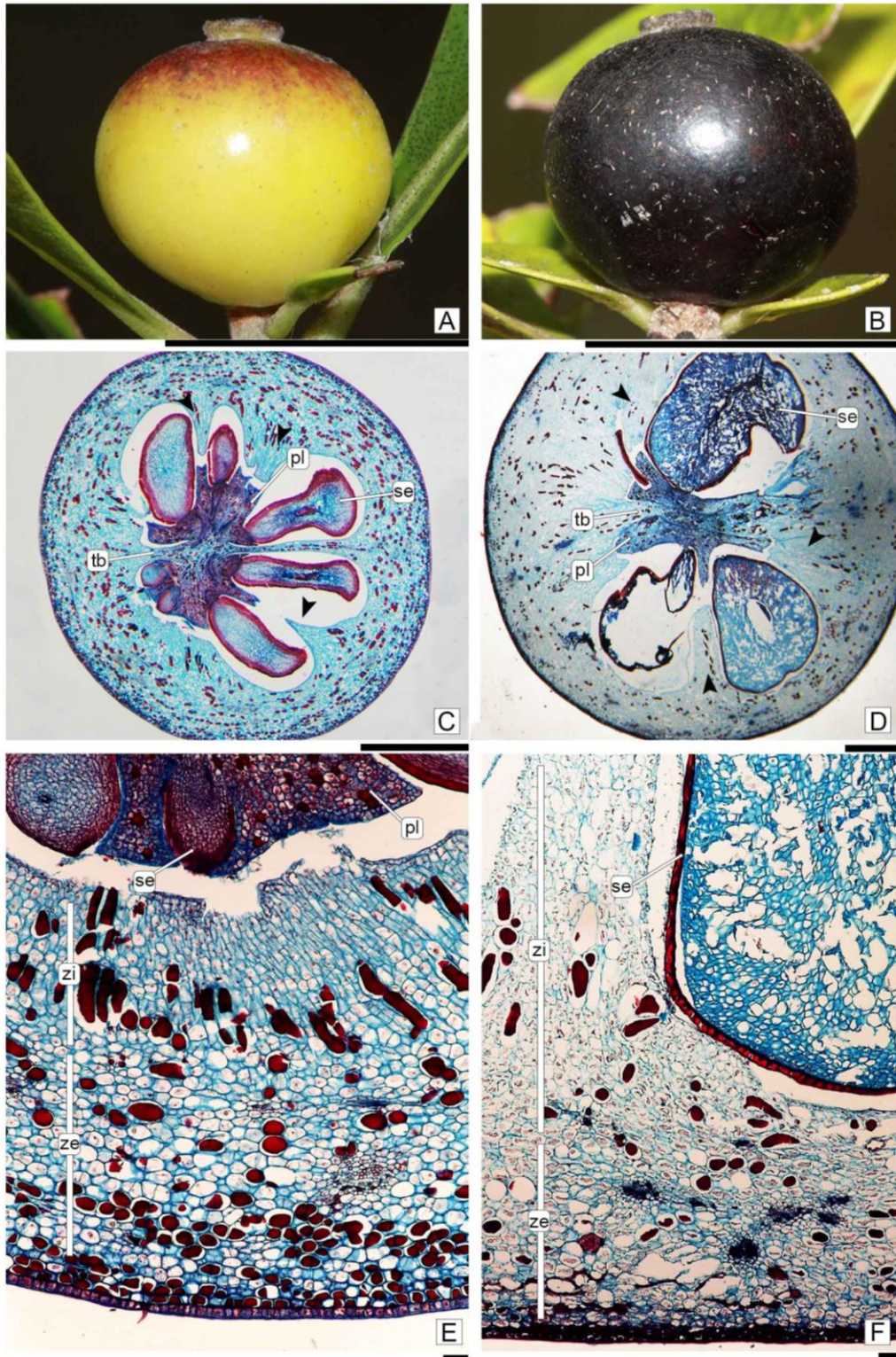


FIGURA 47. FRUTO INTERMEDIO (A, C, E) Y MADURO (B, D, F) DE *C. CONCOLOR*. A-B. Vista superficial de frutos. C-D. Corte transversal. E-F. Detalle de transcorte de la pared del fruto. **Referencias:** pl= placenta, se= semilla, tb= tabique, zi= zona interna del mesocarpo, ze= zona externa del mesocarpo. **Escalas:** A-B= 1 cm, C-F= 50 μ m. Puntas de flecha indican origen de la protrusión de mesocarpo y endocarpo entre las semillas

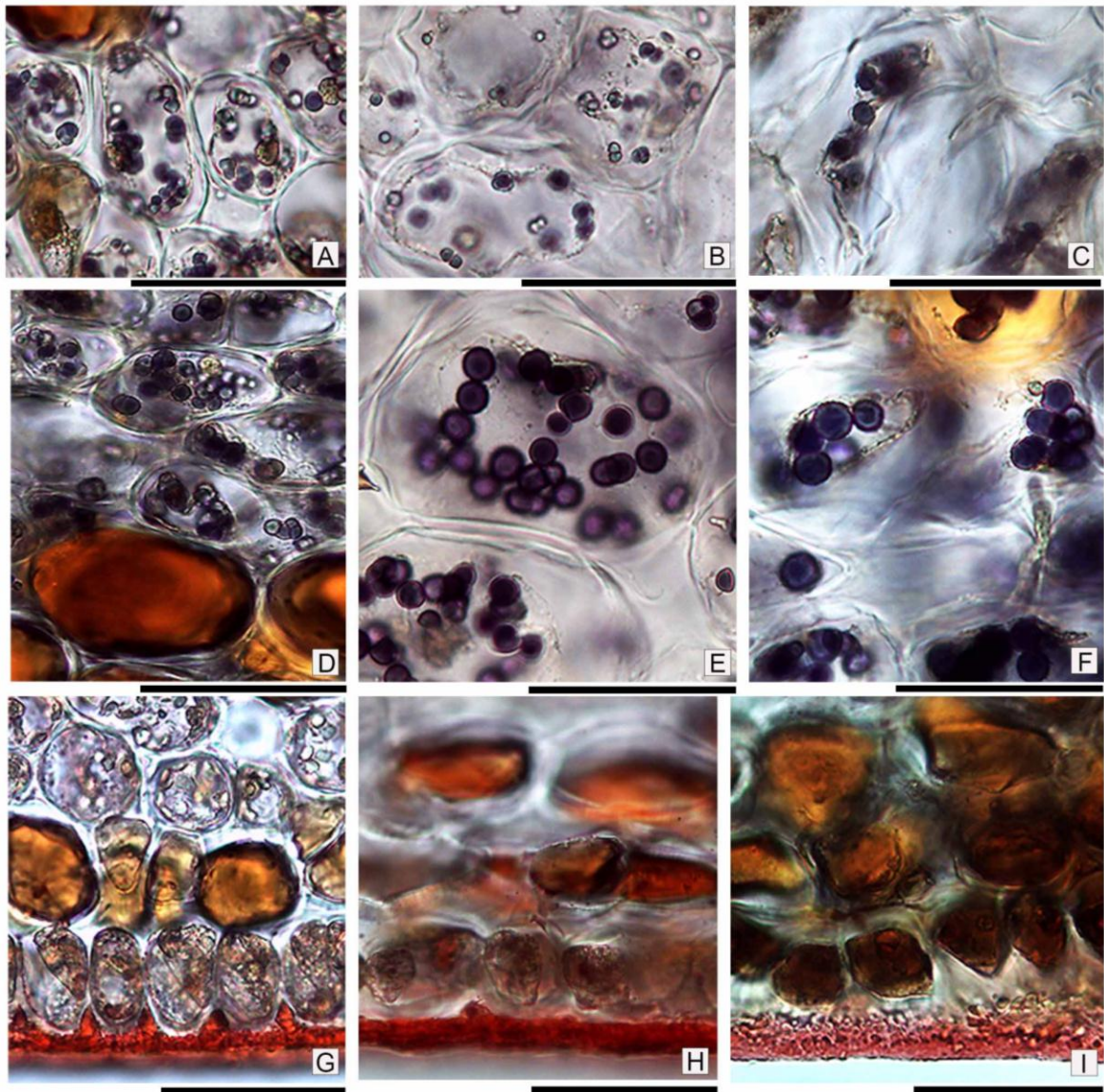


FIGURA 48. HISTOQUÍMICA DEL FRUTO DE *C. CONCOLOR*. A, D, G. Fruto inmaduro. B, E, H. Fruto intermedio. C, F, I. Fruto maduro. A-F. Células con granos de almidón (Lugol). G-I. Exocarpo, la cutícula reacciona positivamente al Sudán III. A-C. Zona interna del mesocarpo. D-F. Zona externa del mesocarpo. Escalas: 50 μ m.

DISCUSIÓN

Durante la diferenciación del fruto, la pared del ovario se transforma en el pericarpio, en el caso de los frutos derivados de flores con ovario ínfero, los tejidos extracarpelares también participan en la formación del fruto, ya sea como parte del mismo en el caso del pomo o bayas de ovario ínfero o formando parte de la “piel” o “cáscara” como en las pseudobayas cuyo ejemplo más representativo es la banana (Roth, 1977; Weberling, 1989). También en la formación del pericarpio pueden participar los septos y las placentas (Fahn, 1985).

La separación de la pared del fruto en capas denominadas exocarpo, mesocarpo y endocarpo es una manera de facilitar la descripción anatómica de los frutos maduros, especialmente útil en los de naturaleza carnosa (Fahn, 1985). Dichos términos pueden utilizarse sin relacionarlos con el origen ontogenético de las capas, el exocarpo por ejemplo puede comprender la epidermis junto con algún tejido subyacente (*s. lato*) o asignarse el término en sentido estricto y en ese caso está representado solo por la epidermis (*s. stricto*), (Esau, 1982).

En *C. concolor*, en el fruto maduro se pudieron distinguir exo, meso y endocarpo, además de la placenta y el tabique (ambos reducidos). El exocarpo se describe en sentido amplio y se lo considera formado por la epidermis con una cutícula engrosada y las células subepidérmicas taníferas, capas que tienen pocos cambios durante la diferenciación del fruto. El mesocarpo se divide en dos zonas claramente distinguibles y delimitadas desde el ovario: el **mesocarpo externo** se caracteriza por ser la zona de los haces vasculares, aquí las células son circulares a poligonales y hay gran cantidad de células con taninos y drusas; mientras que en el **mesocarpo interno** las células aumentan radialmente de tamaño en dirección al lóculo; en esta zona no hay haces vasculares y hay pocas células con tanino. El mesocarpo junto al endocarpo uniestratificado (derivado de la epidermis interna del ovario) forman la pulpa gelatinosa que protruye entre las semillas, ya que el tejido parenquimático de origen placentario que recubre a los óvulos y caracteriza al ovario hasta la antesis, se degrada durante la formación del pericarpio y es reemplazado por la porción interna del mismo.

En la tribu *Gardenieae* se han descritos “frutos de *Gardenia*” (Robbrecht & Puff, 1986; Eriksson & Bremer, 1991; Bremer & Eriksson, 1992), caracterizados por presentar endocarpo y mesocarpo coriáceos, fibrosos o leñosos, con las semillas embebidas en una pulpa de origen placentario a la madurez. Teniendo en cuenta dichas características, los

frutos de *C. concolor* a pesar de contar con pulpa gelatinosa (de origen pericárpico), no pueden ser clasificados como “frutos de *Gardenia*” debido a que presentan un endocarpo y mesocarpo carnosos. Sería necesario realizar estudios anatómicos en el resto de las especies analizadas en esta tesis, para afirmar si son “frutos de *Gardenia*”.

Generalmente, en las descripciones taxonómicas de las especies de *Tocoyena*, *Cordia* (incluyendo a *C. concolor*), *Genipa* y *Randia*, el fruto se menciona de tipo bayáceo o bayoide. Según Roth (1977), las **bayas** son frutos indehiscentes, carnosos, compuestos principalmente por parénquima. Este autor describe que dichos frutos presentan un pericarpio formado por un exocarpo pigmentado, compuesto por la epidermis y los tejidos subepidérmicos, un mesocarpo que puede diferenciarse en distintas capas y un endocarpo uniestratificado compuesto solo por la epidermis interna. Estas características de un fruto tipo **baya** coinciden con las encontradas en los frutos de *C. concolor*. Sin embargo, dado que en esta especie el fruto deriva de un ovario ínfero, el término que debería aplicarse al fruto de *C. concolor* es el utilizado por Fahn (1985), “baya de ovario ínfero”, para diferenciarlo de la baya típica de ovario súpero.

Matsuoka (2008) en una tesis de maestría, describe los frutos de dos especies de *Alibertia* y de cuatro especies de *Cordia* (las principales características se muestran en la tabla 8), en todos los casos son bayas de ovario ínfero de forma globosa. Para estas especies, el autor establece tres regiones: externa, media e interna, lo que correspondería al exocarpo, mesocarpo y endocarpo en sentido amplio.

Matsuoka (2008) encontró que en el pericarpio de las especies tratadas por él, hay abundantes células parenquimáticas con almidón y taninos. La presencia de esclereidas y braquiesclereidas se encontraron únicamente en *C. macrophylla*, mientras que existen braquiesclereidas en *A. sorbilis*. A diferencia de las especies descritas por Matsuoka (2008), los frutos de *C. concolor*, son los más pequeños y presentan solo dos lóculos (en las otras especies de *Cordia* hay 3-4 lóculos). Hasta el momento, anatómicamente los frutos de *C. concolor* son los únicos en el género en los que se observa que parte del mesocarpo y el endocarpo generan proyecciones hacia el lóculo. Además, carecen de esclereidas, braquiesclereidas y de células con contenido lipofílico (presentes en *C. humilis* y *C. macrophylla*). La característica compartida entre estas especies con *C. concolor* es la presencia de parénquima con almidón y taninos.

Según Eriksson & Bremer (1991), la dispersión de los frutos carnosos en Rubiaceae se facilita por las aves y los mamíferos. En *C. concolor*, los frutos son consumidos por aves y murciélagos, además las personas los consumen al natural (Coimbra Molina, 2014).

En cuanto a la naturaleza de la pulpa que envuelve a las semillas en los frutos de *Gardenieae* no se encontraron antecedentes de estudios anatómicos que describan a qué tejido corresponde dicha pulpa. Hallé (1967) describe que en los frutos maduros de los géneros *Polycorine*, *Randia*, *Euclina* y *Duroia*, es la placenta la que se descompone formando una pulpa mucilaginosa semi-líquida de color negro o marrón con olor a fermentación alcohólica, sin embargo, no realizó la ontogenia de los frutos para afirmar esa propuesta. Dicho autor, propone que este tejido placentario protegería a las semillas contra la desecación y aseguraría la atracción de los animales frugívoros. Además, Rodríguez (1976) menciona que en *Genipa* y *Randia*, los frutos presentan el endocarpio coriáceo y lignificado y muchas semillas embebidas en una masa carnososa, pero no hace mención al origen de dicha masa ni realiza estudios histológicos de la misma.

Con el presente estudio, fue posible responder que en los frutos de *C. concolor*, la masa gelatinosa en la que se encuentran las semillas corresponde principalmente al mesocarpo interno y endocarpo, siendo escasa la participación de las placentas. Sería interesante continuar el estudio la diferenciación del fruto en las restantes especies *T. formosa*, *G. americana* y *Randia spp.* a fin de determinar si el origen de la masa gelatinosa que envuelve a las semillas es compartido entre las diferentes especies de la tribu y si es un carácter con utilidad taxonómica.

TABLA 8. COMPARACIÓN DE CARACTERÍSTICAS MORFO-ANATÓMICAS DE LOS FRUTOS EN ESPECIES DE *ALIBERTIA* Y *CORDIERA*.

* Datos de Matsuoka (2008).

Referencias: **Al**= almidón; **Br**= braquiesclereidas; **Cd**= cutícula delgada; **Cg**= cutícula gruesa; **Cl** = células con contenido lipofílico; **Dr**= drusas; **Ep**= epidermis; **Es**= esclereidas; **Pq**= parénquima; **Tn**= células con taninos.

Especie	Diámetro	Aspecto externo y consistencia	Exocarpo <i>s.l.</i>	Mesocarpo <i>s.l.</i>	Endocarpo <i>s.l.</i>	Nº de lóculos
<i>Alibertia edulis</i> *	4-8 cm	Liso. Leñoso	Cd + Ep + 2-3 capas de Pq con Al	Pq con Al + Br + Tn	Pq con Al + Tn	6-7
<i>A. sorbilis</i> *	9-11 cm	Liso. Carnoso y succulento	Cg + Ep + Pq	Pq con Tn + Br	Pq con Tn	6-8
<i>Cordia elliptica</i> *	0.8-2 cm	Liso. Carnoso y succulento	Cg + Ep + 3-4 capas de Pq y Tn	Pq con Al + Tn + Dr	Pq con Al + Tn	3
<i>C. humilis</i> *	2-3 cm	Liso. Carnoso y succulento	Cg + Ep + 4-5 capas de Tn	Pq con Al + Tn + Cl	Pq con Al + Tn	4
<i>C. macrophylla</i> *	3-5 cm	Verrugoso. Carnoso y succulento	Cg + Ep con Cl + Pq	Pq con Al + Br + Es	Pq con Al + Tn	4
<i>C. sessilis</i> *	2-4 cm	Liso. Carnoso y succulento	Cg + Ep	Pq con Al + Tn	Pq con Al + Tn	3
<i>C. concolor</i>	1 cm	Liso. Carnoso y succulento	Cg + Ep + 2-3 capas de Tn	Pq con Al + Tn	Ep	2

BIBLIOGRAFÍA

- Bremer B & O Eriksson. 1992.** Evolution of fruit characters and dispersal modes in the tropical family Rubiaceae. *Biol. J. Linn. Soc.* 47: 79–95.
- Coimbra Molina DJ. 2014.** Guía de frutos silvestres comestibles de la Chiquitania. Editroial FCBC. Santa Cruz, Bolivia, 112 p.
- Eriksson O & B Bremer. 1991.** Fruit characteristics, life forms, and species richness in the plant family Rubiaceae. *Amer. Naturalist.* 138: 751–761.
- Esau K. 1982.** Anatomía de las plantas con semilla. Hemisferio Sur. Buenos Aires, 512 p.
- Fahn A. 1985.** Anatomía vegetal. Ed. Pirámide. Madrid, 599 p.
- Hallé F. 1967.** Étude biologique et morphologique de la tribu des Gardéniées (Rubiaceés). *Mém. O.R.S.T.O.M.* 22: 1–146.
- Matsuoka LG. 2008.** Morfo-anatomia dos ovários e dos frutos e sistemática de *Alibertia* e *Cordia* (Rubiaceae, Gardenieae). Tesis de maestria, Goiana, Brasil, 78 p.
- Robbrecht E. 1988.** Tropical woody Rubiaceae. *Opera Bot. Belg.* 1: 1–271.
- Robbrecht E & Puff C. 1986.** A survey of the Gardenieae and related tribes (Rubiaceae). *Bot. Jahrb. Syst.* 108: 63–137.
- Rodríguez P. 1976.** Estudio sobre los frutos carnosos y sus semillas en las Rubiaceae de Venezuela. *Acta Bot. Venez.* 11: 283–383.
- Roth I. 1997.** Fruits of Angiosperms: Handbuch der Pflanzenanatomie, Vol. 10 (1): G. Borntraeger, Berlin, 675 p.
- Weberling F. 1989.** Morphology of flowers and inflorescences. Cambridge University Press, Cambridge. 405 p.

Capítulo VI: Revisión del género

Randia para el Cono Sur de Sudamérica

INTRODUCCIÓN

Randia L. clásicamente fue reconocido como un género pantropical con más de 200 especies (Candolle, 1830; Schumann, 1891). Sin embargo, en base a caracteres vegetativos (braquiblastos) y reproductivos (polen en tétrades permanentes), Fagerlind (1943) restringió el género a las especies nativas de América, segregando a numerosos géneros Africanos y algunos Neotropicales de su circunscripción.

El género *Randia* L. (Gardenieae- Rubiaceae) actualmente consta de 90 especies arbustivas, arbóreas y algunas lianas, que viven en formaciones boscosas desde el nivel del mar hasta los 3300 msnm (Lorence, 1986; Gustafsson, 1998, 2000). En base a aportes morfológicos y principalmente moleculares, Gustafsson (2000) definió al género por tener representantes leñosos y dioicos (con flores funcionalmente imperfectas, pero estructuralmente perfectas), polen en tétrades permanentes, frutos con abundantes semillas inmersas en una pulpa gelatinosa que al secarse se torna negruzca y ramas cortas laterales (braquiblastos) generalmente espinosas en los nudos.

Gustafsson & Persson (2002) realizaron un estudio filogenético basado en la combinación de caracteres morfológicos y moleculares (5S rDNA e ITS) en 38 especies del género. Como resultado demostraron que en la concepción actual *Randia* es un taxón parafilético, cuyas especies aparecen entremezcladas con otros géneros de *Gardenieae* morfológicamente bien delimitados (e.g. *Tocoyena* Aubl., *Sphinctanthus* Benth. y *Rosenbergiodendron* Fagerl.).

En Argentina se reportaron tres especies de *Randia* (Bacigalupo *et al.*, 2008):

1) *Randia ferox* (Cham. & Schltld.) DC., mencionada para bosques de tierras bajas (Chaco, Corrientes, Misiones y Formosa), tiene flores con corola blanca y son muy fragantes;

2) *R. micracantha* (Lillo) Bacigalupo de bosques estacionalmente secos (Jujuy, Salta, y Tucumán), presenta flores con corolas amarillentas de suave fragancia (Bacigalupo, 1993; Bacigalupo *et al.*, 2008); y

3) *R. armata* (Sw.) DC. de bosques secos, también con corolas blancas, ha sido reportada extensamente desde Brasil, Paraguay, Bolivia hasta Argentina (Chaco, Corrientes, Misiones y Formosa) [e.g., Smith & Downs, 1956; Bernardi, 1985; Bacigalupo, *et al.*, 2008; Serrano & Terán, 1998; algunas veces citada como *R. spinosa* (Jacq.) H. Karst., *nom. illeg.* o *Basanacanthus spinosa* (Jacq.) K. Schum.]. Sin embargo, Delprete *et al.* (2005) restringió la aplicación de este nombre a las plantas de América Central, las Antillas y Norte de Sudamérica, excluyendo las plantas del Sur de Sudamérica de su circunscripción.

En el Cono Sur, los estudios más recientes relacionados a *Randia* en Paraguay fueron llevados a cabo por Bernardi (1985). Este autor reportó dos especies del género en dicho país: 1) *R. calycina* Cham. del Oeste de Paraguay (departamentos Concepción y Amambay), y 2) *R. armata*. En la última especie, Bernardi (1985) incluyó las siguientes variedades: *Randia armata* var. *armata*, ampliamente distribuida en el país, *Randia armata* var. *pubescens* (Kunth) R. Knuth y *Randia armata* var. *ferox* (K. Schum.) Bernardi, las últimas dos de Paraguay (Cordillera, Concepción, Amambay y Presidente Hayes). Su trabajo comprende una sinopsis sintética de las especies Paraguayas de *Randia*, en la cual sinonimiza numerosas variedades y formas principalmente bajo la sinonimia de *Randia armata*. Estos nombres fueron tratados previamente por Chodat & Hassler (1904) bajo el nombre de *Basanacantha* Hook. f.

A pesar de los aportes de diferentes autores, las observaciones en los herbarios principales de Sudamérica, incluyendo aquellos del Cono Sur, indican que *Randia armata* continua siendo uno de los nombres más comúnmente aplicados para identificar especímenes pertenecientes a *Randia*. Si bien los estudios fueron enfocados principalmente en las especies Argentinas del género, con el fin de conocer la distribución natural de las especies y sus caracteres diagnósticos, los estudios se basaron en el análisis de todos los especímenes disponibles y colectados en el Cono Sur de Sudamérica.

EN ESTE CAPÍTULO SE PROPONEN LOS SIGUIENTES OBJETIVOS:

1) Caracterizar taxonómicamente a las especies de *Randia* que viven en el Cono Sur de Sudamérica, con énfasis en las especies Argentinas.

2) Estudiar la morfología polínica de las especies Argentinas.

3) Proveer una discusión sobre el concepto de *Randia armata* en el contexto de las especies del Cono Sur de Sudamérica.

RESULTADOS

Al igual que en otras regiones de América, en el Cono Sur de Sudamérica el nombre más utilizado para identificar especímenes del género *Randia* es *R. armata*. Teniendo en cuenta este antecedente, se comenzó el estudio taxonómico del género, inicialmente para Argentina, y posteriormente extendiéndolo al Cono Sur de Sudamérica. Con los aportes generados en este trabajo, actualmente en Argentina, se reconoce que el género *Randia* presenta cinco especies (Fig. 49): *R. brevituba*, *R. calycina*, *R. ferox*, *R. micracantha*, y *R. sp. nov.* Estas especies se describen a continuación.

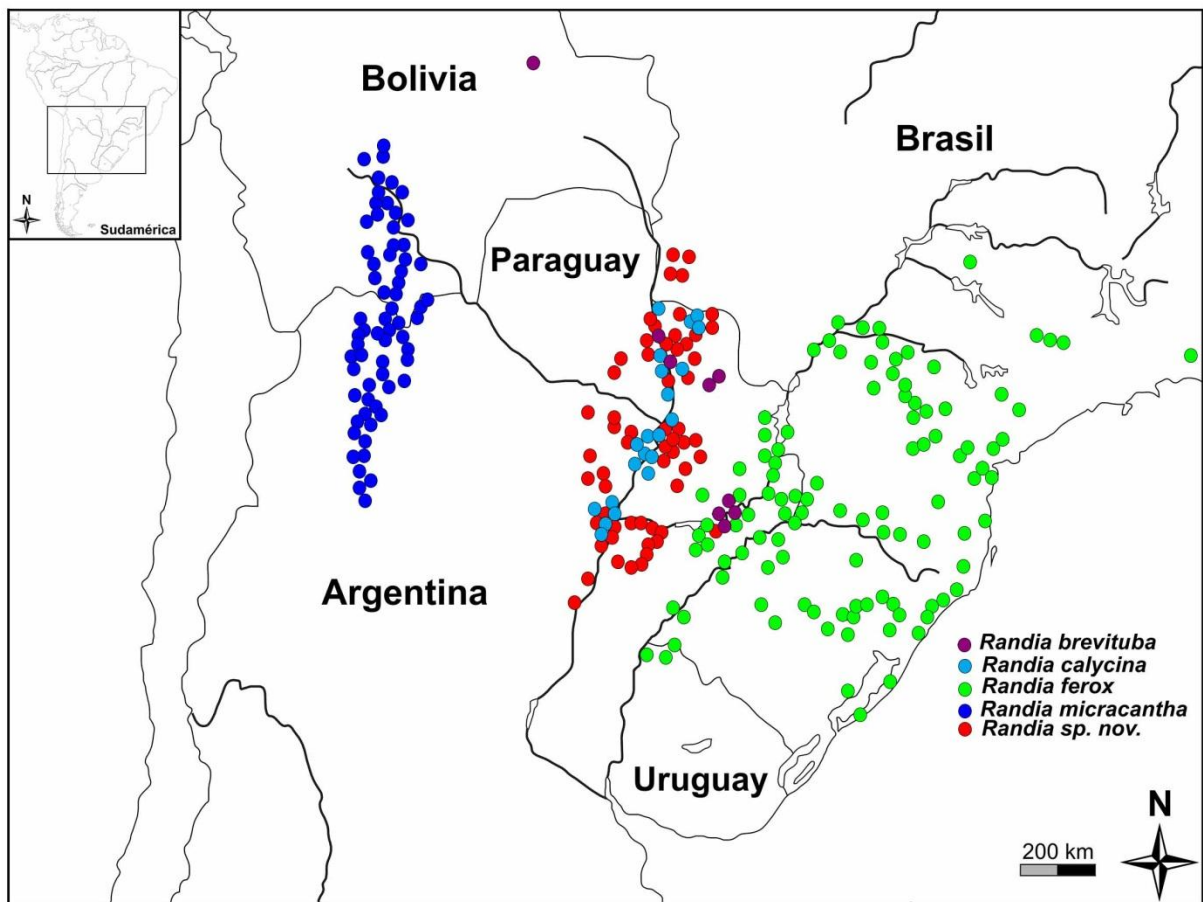


FIGURA 49. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS ESPECIES DE *RANDIA* QUE HABITAN EN EL CONO SUR DE SUDAMÉRICA.

Randia L., *Sp. Pl.* 2: 1192. 1753. Lectotipo: *Randia mitis* L. (designado por Hitchcock & Green, 1929, = *Randia aculeata* L.).

Basanacantha Hook. f. in Benth. & Hook. f., *Gen. Pl.* 2: 82. 1873. Lectotipo: *Basanacantha hebecarpa* (Benth.) Hook. f., *Gen. Pl.* 2: 82. 1873 (designado por Judkevich *et al.*, 2015). (= *Randia hebecarpa* Benth.).

Árboles, arbustos y algunas lianas, dioicos, generalmente con espinas caulinares. Hojas opuestas, raramente verticiladas, sésiles o pecioladas; lámina elíptica, oblonga, ovada, obovada o espatulada, membranácea o coriácea; con o sin domacios en las axilas de las venas secundarias y terciarias. Estípulas interpeciolares triangulares, con coléteres en la base de la cara interna. Inflorescencias terminales cimosas, uni a multifloras. Flores funcionalmente imperfectas, actinomorfas, 5 (4-6-7)-meras; cáliz dentado o lobulado a veces con lóbulos foliáceos, externamente glabro o pubescente, persistente; corola actinomorfa, hipocraterimorfa o infundibuliforme, garganta pilosa o glabra, lóbulos con prefloración contorta; estambres fijos en la parte superior del tubo corolino, anteras dorsifijas, estaminodios en flores pistiladas; polen en tétrades; ovario 2-4 locular con numerosos óvulos inmersos en la placenta; estilo de ápice 2-lobado, pistilodio en flores estaminadas. Fruto bayáceo, coronado por el cáliz, indehiscente, con semillas numerosas, inmersas en el tejido placentario, gelatinoso, dulce; semillas orbiculares, albuminadas.

Distribución y hábitat— se distribuye en América, desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de la Argentina, Paraguay y sur de Brasil (Delprete, 2010; Delprete *et al.*, 2005). Habita en formaciones boscosas siempreverdes o deciduas, desde el nivel del mar hasta los 3300 msnm.

Observación— de acuerdo a lo estudiado, el sinónimo *Basanacantha* Hook. f. carece de especie tipo. El autor citó en el protólogo a cinco nombres específicos morfológicamente afines: *Basanacantha dioica* (H. Karst.) Hook. f., *B. hebecarpa*, *B. humboldtiana* (Roem. & Schult.) Benth. & Hook. f. ex B.D. Jacks., *B. monantha* (Benth.) Hook. f. y *B. tetracantha* (Cav.) Hook. f. De esos nombres, se designa como especie tipo a *Basanacantha hebecarpa*, de acuerdo al artículo 10 del *ICNafp* (McNeill *et al.*, 2012), porque reúne todas las características morfológicas que se mencionan en el protólogo del género.

CLAVE PARA DIFERENCIAR LAS ESPECIES DE RANDIA EN ARGENTINA

1. Ramas con más de dos verticilos de espinas, cada uno seguido de un macroblasto o de un braquiblasto (Fig. 50), espinas delgadas, aciculares y quebradizas; corola infundibuliforme, verde-amarillenta; granos de polen con exina reticulada..... ***Randia micracantha***
- 1'. Ramas con un verticilo subapical de espinas seguido por 1 o más braquiblastos, espinas generalmente robustas, ocasionalmente delgadas en ramas nuevas; corola hipocrateriforme, blanca o blanca tornándose amarillenta al final de la anthesis; granos de polen con exina psilada o foveada, nunca reticulada..... **2**
2. Árboles (2-) 4-12 m alt.; tubo de la corola 22-34 (FFE), 25-27 mm long (FFP); fruto 30-50 × 25-30 mm, pericarpo 1,2–3,5 mm de espesor, leñoso ***Randia ferox***
- 2'. Árboles 0,8-4 (6) m alt., tubo de la corola 2,8-16,1 (FFE), 4,7-16 mm long (FFP); fruto 13-30(-35) × 12-19 mm, pericarpo 0,3–1 mm de espesor, coriáceo **3**
3. Lámina foliar pubescente o hispida, raramente con la cara adaxial glabra; cáliz y superficie externa de la corola pubescente, raramente pubérula; fruto pubérulo, con numerosas lenticelas a la madurez ***Randia calycina***
- 3'. Lámina foliar glabra o pubérula en ambas caras; cáliz y superficie externa de la corola glabra; fruto glabro, sin lenticelas evidentes **4**
4. Hojas isomorfas a lo largo de los tallos jóvenes, domacios presentes; lóbulos del cáliz externamente glabros, internamente pubescentes, margen glabro o pubérulo; tubo de la corola 2,8-7,9 mm long. (FFE) y 4,7-5,4 mm long. (FFP); polen psilado, no foveolado; fruto sésil o subsésil, 13-17,2 mm long..... ***Randia brevituba***
- 4'. Hojas heteromorfas a lo largo de los tallos, algunas orbiculares especialmente en renuevos, domacios ausentes, lóbulos del cáliz glabros, margen ciliado, tubo de la corola 11,5-14,7 mm long. (FFE) y 10,5-14,4 (FFP); polen psilado a foveolado; fruto pedicelado, 22-27.2 mm long..... ***Randia sp. nov.***



FIGURA 50. ESQUEMA CON LOS DOS TIPOS DE RAMAS PRESENTES. A. Rama con un verticilo subapical de espinas (*R. brevituba*, *R. calycina*, *R. ferox*, *R. sp. nov.*). **B.** Rama con más de dos verticilos de espinas (*R. micracantha*).

1) *Randia brevituba* M. D. Judkevich & R. M. Salas, Syst. Bot. 41(1): 239–243, 2016. Tipo: ARGENTINA. Misiones: Dpto. San Ignacio, Establecimiento Pomera S. A., 27°13'35.1"S, 55°34'41.2"W, 92 m alt., 17-IX-2014 (P, fl, fr), *Keller & Franco 12253* (holotipo: CTES!, isotipo: SI!). (Fig. 51 A-J; 54 A-E).

Basanacantha spinosa var. *macrocalyx* Chodat & Hassl., Bull. Herb. Boissier, sér. 2, 4: 173. 1904. *syn. nov.*—TIPO: PARAGUAY. Canindeyú, *ad ripam fluminis Carimbatay*, XII-1901-1902 (E, fl), *E. Hassler 5822* (holotipo G00400524!, 3 ejemplares).

Basanacantha spinosa var. *parviflora* Chodat & Hassl., Bull. Herb. Boissier, sér. 2, 4: 173. 1904. *syn. nov.*—TIPO: PARAGUAY. Concepción, “*in glareosis siccis pr. Concepción*”, XII-1901 (P, fl), *E. Hassler 7374* (lectotipo: G00400265!, designado por Judkevich et al. 2016; isolectotipos: BM n.v, G00400267!, G00400268!, G00400269!, G00400270!, MO!, MPU!, NY!, P!, S!, UC!).

Árbol o arbolito, 3-7.4 m alt., tronco en la base 19 cm diámetro.; ramas opuestas, con 3-4 espinas por nudo, 5,6-14,8 × 0,78-2,5 mm, con 1-2 braquiblastos en el ápice. Hojas isomorfas pecioladas; pecíolo 3,1-17,2 mm long., glabro; láminas anchamente ovada, 32-78 × 18,1-48 mm, base atenuada, ápice cuspidado, cortamente acuminado, o raramente

mucronado, glabra en ambas caras, excepto sobre las venas que son pubérulas; 5-9 venas secundarias a ambos lados, ascendentes; domacios en mechón de pelos entre la vena primaria y las venas secundarias; estípulas verdes, caducas, triangulares u ovadas, con ápice agudo o acuminado, 2,2–5,54 mm long., externamente glabras, internamente con coléteres y tricomas simples distribuidos en la base de la estípula. Inflorescencia terminal y fasciculada, estaminada 3-8 flora, pistilada 1-flora. Flores 5-meras, fragantes; flores estaminadas pediceladas, pedicelo 3,4–9,2 mm long; ovario obcónico, pubérulo y reducido, cáliz 5-lobado, lóbulos iguales o desiguales, triangular o espatuladas, externamente glabros, internamente pubescentes, margen glabro o pubérulo, 1,8-3,9 mm long.; corola hipocrateriforme, tubo verde, externamente glabro, internamente pubescente desde la mitad del tubo hasta la base de los lóbulos, 2,8–7,9 × 2–3,2 mm; lóbulos obovados, ápice redondeado, al comienzo de la anthesis patentes y blancos, tornándose amarillos o inflexos al final, 2,5-6,5 mm long.; pistilodio exserto, estigma bífido, lóbulos ovados, lisos; disco nectarífero epígino; estambres parcialmente exsertos, anteras sésiles, 1,5-1,6 mm long.; polen en tétrades permanentes; tetraédricas, decusadas o romboidales; exina siempre psilada; flores pistiladas pediceladas, pedicelo 2,8-3 mm long.; ovario urceolado y pubérulo, 7,1–7,9 mm long., cáliz 5-lobado, lóbulos desiguales en forma y tamaño, variadamente foliáceo, espatulados, elíptico, angostamente obovado o angostamente triangular, ápice mucronado o acuminado, externamente glabro, internamente pubescente, margen ciliado, 4,2-8,8 mm long.; corola hipocrateriforme, tubo verde, externamente glabro, internamente pubescente desde mitad del tubo hasta la base de los lóbulos, 4,7-5,4 × 3,3-3,5 mm; lóbulos obovados, con ápice redondeado, 3,6-4,8 mm long.; estaminodio parcialmente exserto; estilo parcialmente exserto, glabro; estigma bífido, lóbulos estigmáticos ovados, papilosos; disco nectarífero epígino. Fruto globoso, pubérulo, 13,7-17,2 × 12,5-16 mm; pericarpo 0,3-0,4 mm de espesor, coriácea; semillas de contorno obovado, achatadas, 2-4 mm long., nigrescentes, inmersas en una pulpa gelatinosa.

Distribución y hábitat—*Randia brevītuba* habita en el Nordeste de Argentina (Dept. San Ignacio, Misiones) y Paraguay (Concepción y Canindeyú). En Argentina, se conocen dos colecciones, una en la desembocadura del arroyo Chuño en el Rio Paraná, y otra en el Paraje Corpus, a pocos kilómetros una de otra. En Argentina, esta especie crece en bosques estacionalmente inundables del Rio Paraná y afluentes. Es aparentemente una pionera heliófila que crece en forma de individuos aislado en vegetación riparia secundaria y rodeando monocultivos de *Pinus*. Las flores son muy fragantes y con esencia similar a

Jasminum officinale L., fueron observadas visitantes florales como abejas comunes y *Urbanus teleus* Hübner (1821).

Fenología—Florece de Septiembre a Febrero y fructifica de Abril a Mayo.

Etimología—El epíteto “*brevituba*” hace referencia al tubo de la corola relativamente corto en comparación con otras especies del género.

Observaciones—*Randia brevituba* es fácilmente reconocible de otras especies de *Randia* del Cono Sur de Sudamérica, por tener un tubo corolino corto (2,8-7,9 mm long), con relación longitud/ancho 1,46:1 (FFE) y 2,52:1 (FFP), y por sus lóbulos corolinos marcadamente pubescentes hacia la base y lóbulos inflexos y amarillos al final de la antesis. Además, las flores pistiladas tienen lóbulos calicinos que varían en forma y tamaño en la misma planta, incluso en la misma flor, variando de espatulado, elíptico, o angostamente obovado a angostamente triangular. Dicha variación también puede ser observada en la flor estaminada, pero de espatulado a triangular.

En base al material *T. Killeen 1086* (F, LPB, MO), se cita por primera vez para Bolivia a *R. brevituba*, representando el punto más septentrional de la especie.

Paratipos—ARGENTINA. Misiones: Dpto. San Ignacio, Río Paraná, 27°12'49,1''S, 55°36'8,9''W, 97 m, 1-II-2012 (E, fl), *Keller & Paredes 10686* (CTES); ídem, Corpus, 19-IX-1946 (E, fl), *Álvarez 3390* (CTES, LIL); Establecimiento Pomera S.A., 27°13'20,5''S, 55°34'41,4''W, 17-IX-2014 (P, fl), *Keller & Franco 12258* (CTES); ídem, 27°13'35,5''S, 55°34'41,6''W, 17-XI-2014 (E, fl), *Keller & Franco 12254* (CTES); ídem (fl), 27°13'32,9''S, 55°34'41,7''W, 17-IX-2014 (E, fl), *Keller & Franco 12255* (CTES); ídem (P, fl).

PARAGUAY. Concepción: “*in glareosis siccis prope Concepción*”, IX-1901 (E, fl), *Hassler 7449* (G00400266, G00400271, S, UC).

Material adicional examinado—PARAGUAY. Encarnación, orillas de montes, II-1915 (fl, S), *E. Hassler 1425a* (SI); ídem, *E. Hassler 1425* (SI); Las Golondrinas, Espinoza's Ranch, forest edge, 4-VII-1982, *P.C. Wright 36* (MO).

BOLIVIA. Santa Cruz: Ñuflo de Chavez, Zapoco, an Ayoreo community, 90 km SE of Concepción, 16°33'S, 61°40'W, 450 m, rolling plain of precambrian shield, mosaic of semideciduous forest, wooded savanna and savanna wetland, 26-VII-1985, *T. Killeen 1086* (F, MO).

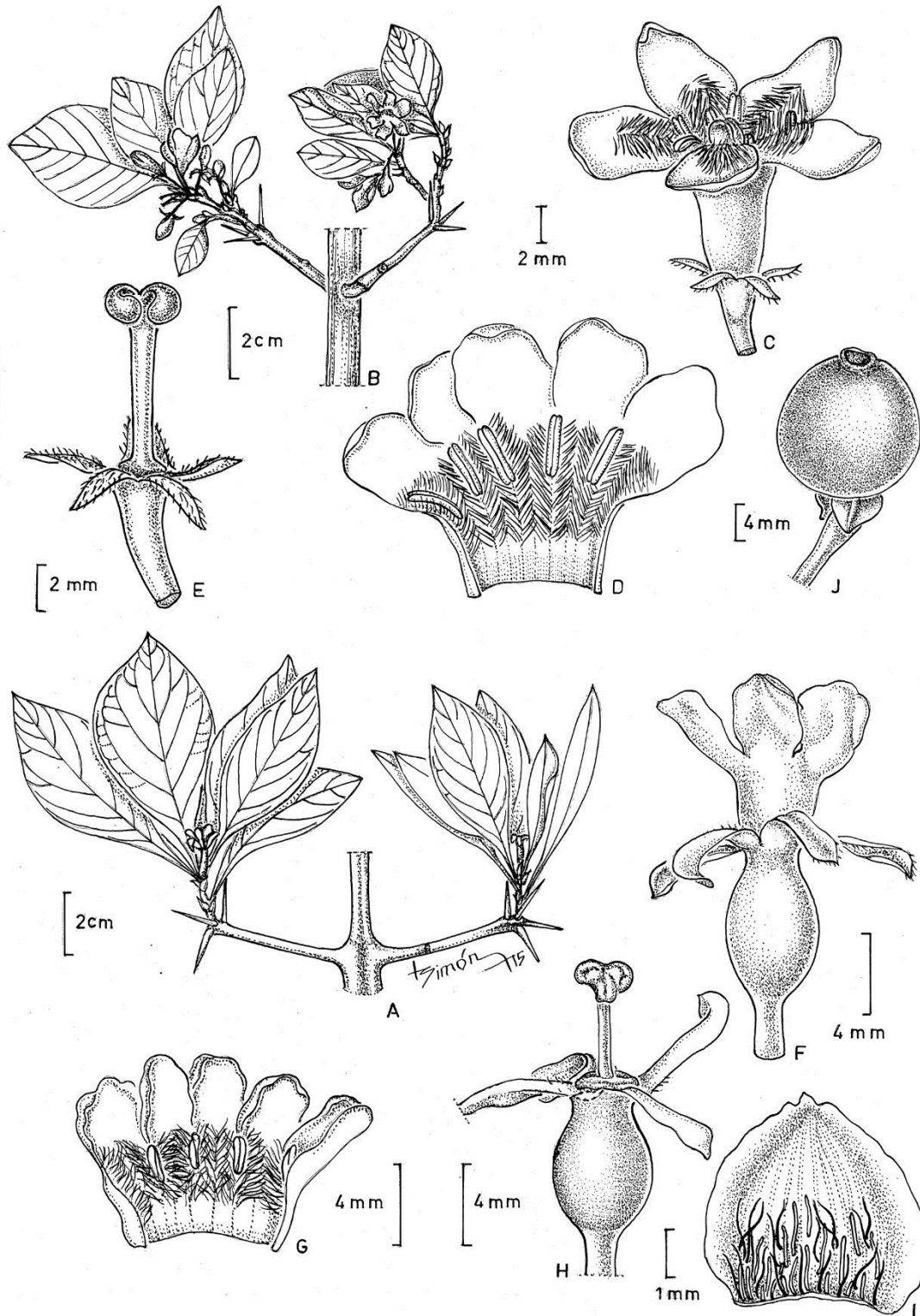


FIGURA 51. *RANDIA BREVITUBA*. A. Rama con flores funcionalmente pistiladas. B. Rama con flores funcionalmente estaminadas. C. Cara interna de una estípula con coléteres en la base. D-F. Flor funcionalmente estaminada. D. Flor completa. E. Interior de la corola. F. Ovario reducido, lóbulos del cáliz, estilo y estigma. G-I. Flor funcionalmente pistilada. G. Flor completa. H. Interior de la corola. I. Ovario, lóbulos del cáliz, estilo y estigma. J. Fruto. **Ilustración:** Laura Simón. A, G-J de Keller & Franco 12253 (CTES); B-F de Keller & Franco 12254 (CTES).

2) *Randia calycina* Cham., *Linnaea* 9: 246. 1834. *Basanacantha calycina* (Cham.) K. Schum., Fl. Bras. 6 (6): 375. 1888. Lectotipo: Brasil, Bahia, prope Nazaré, *F. Sellow 163* (K000265550!, designado por Judkevich *et al.* 2015, isolectotipo S08-13880!, S08-13881!, S08-13882!, S08-13883!) (Fig. 52).

Arbustos 2-5 m alt., ramas escasa o densamente pubescentes, espinas 2-4 por nudo, leñosas, 5,0-15,2 mm long., nudo con espinas rematando apicalmente en 1 o 2 braquiblastos. Estípulas deciduas, lóbulos 2-4 mm long., ovadas, agudas a acuminadas, margen piloso, externamente glabras o esparsamente vilosas, con coléteres y tricomas simples en la base de la cara interna. Hojas heteromorfas, sésiles o pecioladas, pecíolos (cuando presentes) de 4-14 mm long., pubescentes; láminas elípticas, anchamente elípticas, o anchamente obovadas, 2-12 × 1,2-7 cm, ápice agudo o acuminado, a veces mucronadas, agudas en la base, papiráceas, adaxialmente glabras, pubescentes o tomentosas, adaxialmente híspidas o vilosas; con 5-9 venas secundarias a ambos lados de la principal, ascendentes, con indumento más acentuado que en el resto de la lámina; sin domacios. Inflorescencia estaminada fasciculada, 3-12 flora, sésil. Flor estaminada: (4)5(6)-mera, cáliz lobulado, ovario obcónico, pubescente, 3,5-6,9 mm de long.; lóbulos lineares, oblongos o angostamente ovados, esparsamente pubescentes o vilosos en ambas caras, 1,8-7,0 mm de long.; corola (4-)5(-6)-mera, hipocrateriforme; tubo verdoso, 14,0-20,7 × 1,5-2,2 mm, pubérulo o pubescente, internamente pubescente en la porción media superior hasta la base de los lóbulos, lóbulos ovados u obovados, ápice redondeado, blancos, 3,3-6,0 mm long.; estambres inclusos o parcialmente exertos, anteras sésiles; pistilodio incluso o parcialmente exerto; estigma liso, bilobado; disco nectarífero epígino. Inflorescencia pistilada 1-flora, sésil. Flor pistilada: (4)5(6)-mera, cáliz lobado, ovario angostamente elipsoide, pubescente, pelos antrorsos, 5-7 mm long.; lóbulos obovados a espatulados, obtusos o agudos, pubescentes en ambas caras, 4,9-18 mm long.; corola (4-)5(-6)-mera, hipocrateriforme; tubo cilíndrico, verdoso, externamente pubérulo, pubescente desde la mitad superior hasta la base de los lóbulos, 10,7-16,3 × 1,8-2,6 mm; lóbulos redondeados o anchamente ovados, blancos, 2,2-4,5 mm long.; estaminodios inclusos o parcialmente exertos; anteras estériles, sésiles; estilo incluso o parcialmente exerto, glabro; estigma papiloso, bifido, ramas estigmáticas ovadas; disco nectarífero epígino. Fruto ovoide a elipsoide, liso o débilmente costado, glabro o escasamente pubérulo, pubescente cuando inmaduro, verde-grisáceo y con lenticelas al madurar, 13-35 × 12,7-19 mm; coronado por el disco nectarífero y por restos de cáliz; pared del fruto de consistencia coriácea cuando se

seca, 0,3-0,6 mm de espesor; semillas suborbiculares a obovadas, 5-5,7 × 6,7-8,3 mm, comprimidas, pardas, inmersas en el tejido placentario.

Distribución y hábitat—Sudamérica. En el Cono Sur habita en S de Brasil, Paraguay y NE de Argentina. Habita en el interior de bosques de galería o en bosques de *Schinopsis balansae* Griseb, típico de la región oriental de la provincia fitogeográfica chaqueña (Morrone, 2014).

Fenología—Flores en septiembre a noviembre, frutos desde noviembre a abril.

Observaciones— Debido a que el holotipo depositado en B fue destruido, se elige el duplicado en K (K000265550) como lectotipo.

ARGENTINA. Chaco: Dpto. Bermejo, Isla del Cerrito, 10-X-1971 (PE, fl), A. Krapovickas & C.L. Cristóbal 20055 (CTES); *idem*, Colonia Benítez, 28-XI-2014, Judkevich & Salas 57 (CTES); Dpto. San Fernando, Barranqueras, Paranacito, 7-IV-2007 (PP, fr), Rotta 453 (CTES); *idem*, 2-II-2007 (PP, fr), Rotta 426 (CTES). Formosa: Dpto. Formosa, 12 Km Sur de Formosa, 19-VI-1975 (P, fr), A. Krapovickas & A. Schinini 28515 (CTES). Dpto. Laishi. Reserva Ecológica El Bagual, San Francisco de Laishi, 8-IX-1996 (E), A. Digiacomio 268b (CTES). Dpto. Pilcomayo, Estancia Guaycolec, 25 Km norte de Formosa, Ruta Nacional 11, 20-X-1989 (E), G.L. Placci & S.I. Ardite 133 (CTES); *idem*, 1-XI-1989 (P, fl), G.L. Placci & S.I. Arditi 170 (CTES); *idem*, 10-IX-2014 (PP, fl), Judkevich & Salas 49 (CTES); *idem*, 10-IX-2014 (PE, fl), Judkevich & Salas 52 (CTES); *idem*, Monte Lindo, 11-IX-2014 (PE, fl), Judkevich & Salas 54 (CTES); *idem*, Ruta 11, ca. 50 Km N de Formosa, Alrededores del Arroyo Monte Lindo, 25.7870° S, 58.0176° W, 65 m, 1-II-2007 (PP, fr), J. Paula-Souza et al., 8145 (CTES); *idem*, Rio Pilcomayo (Meicoocue), 12-XI-1986 (P, fr), Vergara 2 (CTES).

PARAGUAY. Sin localidad por etiqueta ilegible, sin fecha (fr), P. Jorgensen 3693 (SI). Dpto. Concepción: Prope Concepción, *in dumetis glareosis*, Set 1901-19002, Hassler 7448 (G00229772!, 2 cartulinas, citado como *Basanacantha calycina*); *idem*, Hassler 7448a (G00229768!, citado como *B. hebecarpa*); *idem*, Hassler 7448b (G00229764!, citado como *B. hebecarpa*); Hassler 7448c (G00229761!, citado como *B. hebecarpa*); *idem*, X-1901/1902, Hassler 7642 (G00229797!, 2 cartulinas, citado como *B. spinosa* var. *pubescens*); *idem*, Hassler 7314 (G00229792!, citado como *B. spinosa* var. *pubescens*); *idem*, *in dumeto Ipe Hu*, X-1901/1902, E. Hassler 5202 (G00229783, citado como *B. spinosa* var. *polyantha*); *ad ripam fluminis Paraguay*, IX-1901/1902, E. Hassler 7298 (G00229786, citado como *B. spinosa* var. *polyantha*). Dpto. Cordillera, Cordillera de Altos, X-1915 (fl), E. Hassler 1524 (SI); *idem*, E. Hassler 826 (G00229773, G00229774,

citados como *B. spinosa* var. *pubescens*); San Bernardino, orillas de montes, VIII-1915 (fl, P), *E. Hassler 320* (SI); ídem, *indumeto*, XI-1901/1902, *E. Hassler 3441* (G00229779, 2 cartulinas); Trinidad, bañados y barrancas, Río Paraguay, X-1916 (fl, P). Dpto. Presidente Hayes, Estancia Santa María del Doce, Palmar de Copernicia y bosque en galería, 24°54'389"S, 57°18'23"W, 5-III-2006, *J. De Egea J. 962* (BM, CTES, G, MO); Estancia Maroa, 23°32'33"S, 57°54'7"W, 19-X-2004 (PP, fl), *M. Vera et al. 98* (CTES). Villa Hayes, Estancia la Golondrina, 24°55'S, 57°40'W, *W. Hahn 683* (CORD, MO).

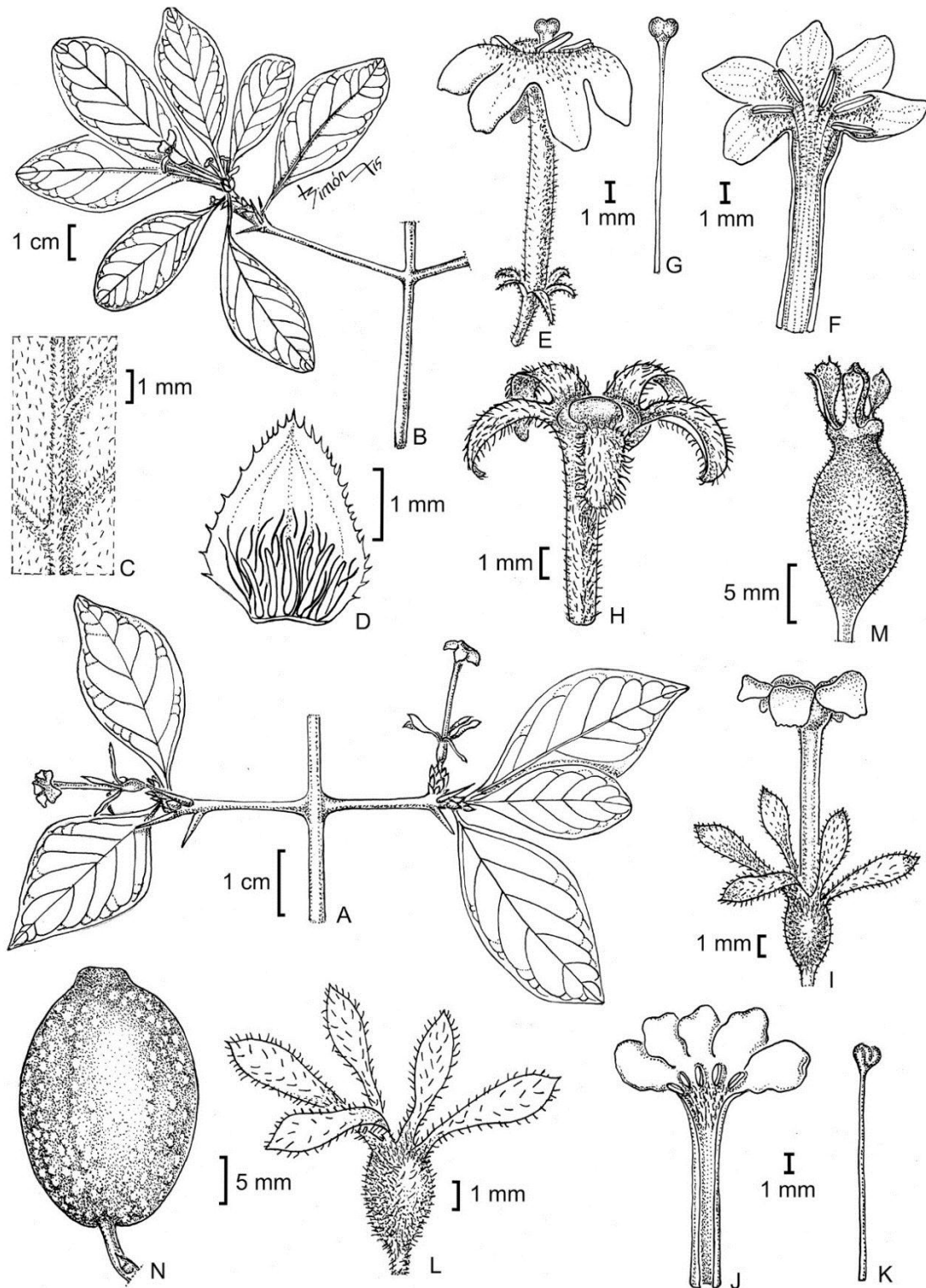


FIGURA 52. *RANDIA CALYCINA*. A. Rama con flores funcionalmente pistiladas. B. Rama con flores funcionalmente estaminadas. C. Detalle de la cara abaxial de la hoja. D. Estípula con coléteres (cara interna). E-H. Flor funcionalmente estaminada. E. Flor completa. F. Corola desplegada. G. Estilo y estigma. H. Detalle del ovario reducido, cáliz y disco nectarífero. I-L. Flor funcionalmente pistilada. I. Flor completa. J. Corola desplegada. K. Estilo y estigma. L. Detalle del ovario y cáliz. M. Fruto inmaduro. N. Fruto maduro. **Ilustraciones:** Laura Simón. B, E-H de Placci & Arditi 133 (CTES). A, C-D, I-L de Vera *et al.*, 98 (CTES). M de Placci & Arditi 170 (CTES). N de Judkevich & Salas 57 (CTES).

3) *Randia ferox* (Cham. & Schltl.) DC., *Prodr.* 4: 387. 1830. *Gardenia ferox* Cham. & Schltl., *Linnaea* 4: 198. 1829. Lectotipo: Brasil, Rio Padre, 1814-1831, *F. Sellow s.n* (HAL144110!), designado por Judkevich *et al.* 2015). (Figs. 53 A-P; 54 F-J).

Árbol o arbusto de 3-15 m alt., ramas glabras; espinas 2-4 por nudo, leñosas, 5,1-19,7 mm long., nudo con espinas rematando apicalmente en 1 o 2 braquiblastos. Estípulas deciduas, lóbulos 3-8 mm long., anchamente ovadas, mucronadas o acuminadas, margen liso, glabras externamente, con coléteres y tricomas simples en la base de la cara interna. Hojas pecioladas, pecíolos 5-20 cm long., glabros; láminas ovadas, oblongo-ovadas u obovadas, 2,25-12,7 × 1,2-6,9 cm, ápice agudo u obtuso, base aguda o acuminada, papiráceas, glabras o esparsamente pubérulas; con 4-7 venas secundarias a cada lado, ascendentes, pubérulas o pubescentes, con domacios tipo mechón de pelos ubicados en la intersección de la vena principal y las secundarias. Inflorescencia estaminada fasciculada, 3-8-(10)-flora. Flor estaminada: 4-5-mera; cáliz lobulado, ovario obcónico, glabro, 5,8-13,1 mm de long., lóbulos obovados, glabros, 3,7-9 mm de long.; corola hipocrateriforme, tubo cilíndrico, verdoso, externamente glabro, pubescente desde la porción media superior hasta la base de los lóbulos, 22,6-34 × 2,5-4 mm; lóbulos de la corola ovados u obovados, ápice redondeado, blancos con la base ligeramente amarillenta, 5,7-11,4 mm long.; estambres inclusos o parcialmente exertos; anteras sésiles insertas en la garganta de la corola; estigma liso 2-lobado, disco nectarífero epígino. Inflorescencia pistilada 1-flora. Flor pistilada: 4-5-mera, cáliz lobulado, ovario urceolado, glabro, 14,2-19,1 mm long., lóbulos angostamente triangulares, glabros, 4-5 mm long.; corola hipocrateriforme, glabra externamente, tubo cilíndrico, verdoso, glabro externamente, pubescente desde la mitad superior hasta la base de los lóbulos; lóbulos redondeados o anchamente ovados, blancos con la base amarillenta, 5,7-8,6 mm long.; estaminodios inclusos o parcialmente exertos; anteras estériles, sésiles, insertas en la garganta de la corola; estilo parcialmente exerto, con 2 ramas estigmáticas ovadas, papilosas; disco nectarífero epígino. Fruto ovoide, obovoide, elipsoide, globoso o subgloboso, liso o ligeramente costado, glabro o con escasos pelos dispersos, amarillo o anaranjado cuando maduro, 30-50 × 25-30 mm, coronado por el disco y por restos de cáliz, pared del fruto de consistencia leñosa cuando se seca; pared 1,2-3,5 mm de espesor; semillas suborbiculares, 7-9 × 5-6 mm, comprimidas, pardas, inmersas en el tejido placentario.

Distribución y hábitat—En Sudamérica habita preferentemente provincia Paranaense, la cual se extiende a través de los bosques Mesófilos e higrófilos que siguen los cursos de los ríos, especialmente el río Uruguay. En el Cono Sur habita en NE de Argentina, Sur de Brasil y Paraguay Oriental. En Argentina vive en el este Corrientes y Misiones. Habita en bosques mesófilos sobre lomadas arenosas, en el interior o al borde de bosques higrófilos. En Misiones, es frecuente en Bosques de *Araucaria* y ocasionalmente en bosques semidecíduos de Mirtáceas. Ocasionalmente pueden encontrarse individuos aislados, separado por varios kilómetros de otros pies, lo cual puede deberse a que sus frutos son dispersados por aves y/o murciélagos (observación realizada en la Reserva Paraje Tres Cerros, La Cruz, Corrientes, Argentina).

Fenología— Flores desde septiembre a abril, con picos de floración en septiembre y octubre, frutos todo el año, especialmente desde febrero a agosto.

Observaciones— el holotipo depositado en B fue destruido, por lo tanto se elige el material de HAL como lectotipo debido a que es el único que puede ser asociado con seguridad al protólogo de la especie.

Material adicional examinado—ARGENTINA. Prov. Corrientes: Dpto. Concepción, 7-X-1972 (E, fl), *Pedersen 10206* (CTES); Dpto. Ituzaingó, Río Aguapey y Ruta 38, 4-XII-1980 (P, fr), *Tressens 1182* (CTES); ídem, establecimiento Santo Domingo, mogote C, 27°41'27.8''S, 56°10'31.2'' W, 7-II-2013 (P, fr), *Keller et al. 11256* (CTES); ídem, 17 km NW de San Carlos, Estancia Rincón Chico, 14-II-1991 (P, fr), *Tressens et al. 3909* (CTES); ídem, Puerto Valle, 27°35'10.1''S, 56°30'50.4''W, 3-X-2013 (E, fl), *Keller 11667* (CTES); Dpto. San Martín, Cerro Capará, 9-IV-2013 (E, fl), *Medina & Salas 384* (CTES). Prov. Misiones: Dpto. Cainguás; Misiones, Campo Grande, 6-XI-1944 (fr), *A.E. Ragonese & J.A. Castoglioni s.n.* (SI); ídem, 6-X-1944 (fl, P), *A.E. Ragonese & J.A. Castoglioni s.n.* (SI).. Dpto. Candelaria, San Juan, 13-VII-1974 (P, fr), *Schwindt 374* (CTES, LIL); Dpto. Guaraní, picada al Arroyo Soberbio, predio Guaraní, 26°54'59''S, 54°12'18''W, 9-IX-1994 (P, fl, fr), *Schinini et al. 28784* (CTES); Dpto. Capital, Posadas, 22-IV-1945 (P, fr), *Bertoni 1317* (CTES-LIL); Dpto. San Javier, Villa Bonita, 2-X-1948 (E, fl), *Bertoni 3782* (CTES, LIL); Dpto. San Pedro, Colonia San Lorenzo, 29-IX-2007 (E, fl), *Keller et al. 4436* (CTES); ídem, Parque Provincial Moconá, Mirador del Yaboty, 27°09'03.67''S, 53°54'51.09'' W, 7-III-2013 (E, fl), *Judkevich et al. 34* (CTES).

BRASIL. Estado Paraná: Municipio Araucaria, Novo Nordisk, 14-XII-1998 (P, fr), *Gatti & Gatti 336* (CTES). Estado Rio Grande do Sul: Santa Maria, Reserva Biológica do Ibicuí-Mirim, 4-X- 1989 (P, fr), *Bonotto 22* (CTES); Feliz, arroyo do Ouro, 26-IX-1991, *A.M. Heckler 7973* (MO); Velha, Bálneario Rondinha, Arroio do Sal, 20-X-1990, *M.G. Rossoni 545* (ICN, MO).

PARAGUAY. Dpto. Alto Paraguay, Primavera, 20-IX-1953 (fl, S), *A. Woolston N245* (SI). Dpto. Canindeyú, Mbaracayú Natural Reserve, administered by Fundación Moises Bertoni, Jejuí-Mi, 24°07'59"S, 55°31'41"W, 10-VI-1998, *E. Zardini & I. Chaparro 48543* (AS, CTES, MO). Dpto. Itapúa: Pirapó, CEDEFO, 26°30'S, 56°50'W, 4-VIII-1984 (P, fr), *Hahn & de Molas 2761* (CORD, MO).

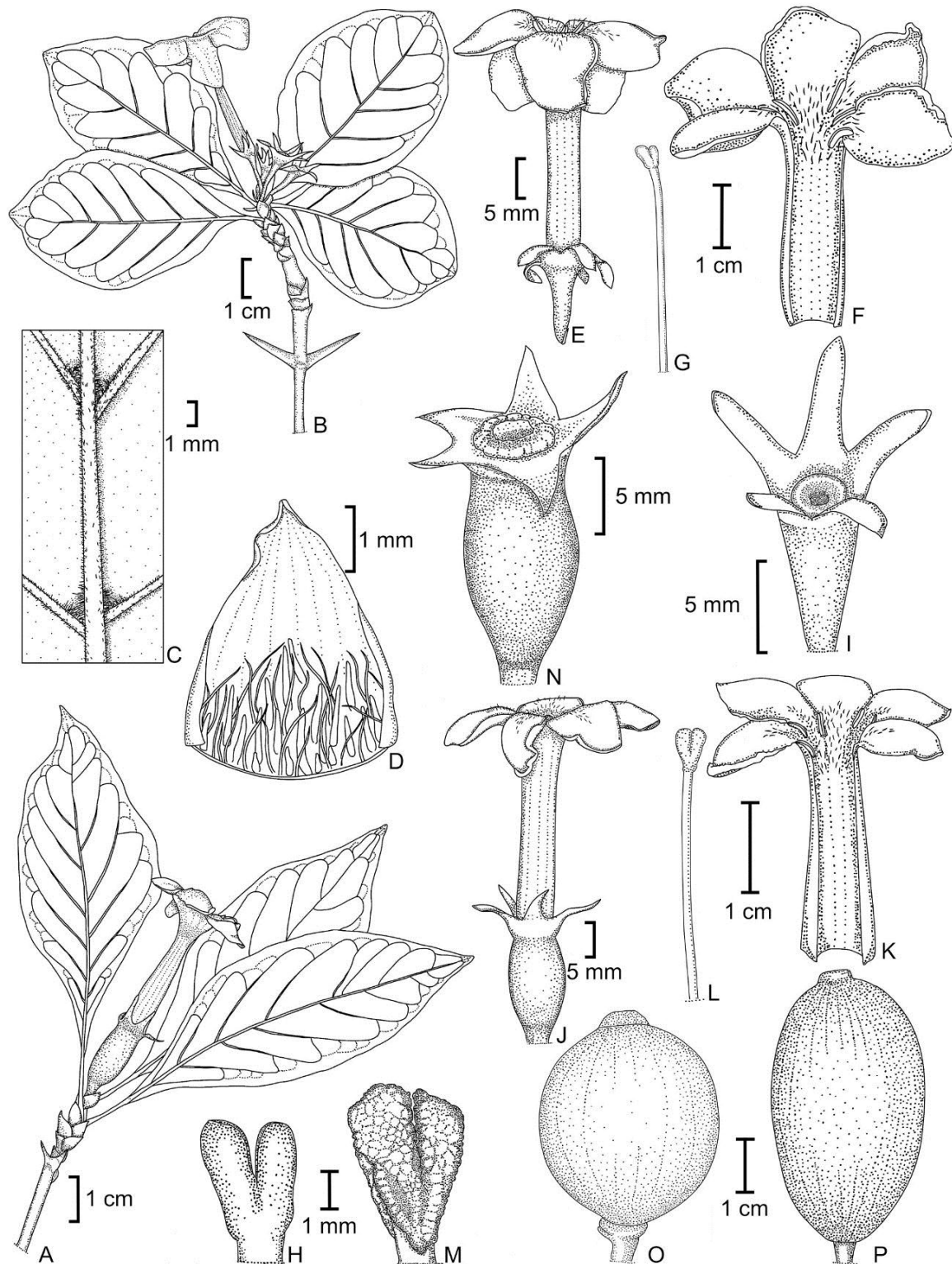


FIGURA 53. *RANDIA FEROX*. A. Rama con flores funcionalmente pistiladas. B. Rama con flores funcionalmente estaminadas. C. Detalle de la cara abaxial de la hoja con domacios. D. Estípula con coléteres. E-I. Flor funcionalmente estaminada. E. Flor completa. F. Corola desplegada. G. Estilo y estigma. H. Estigma. I. Ovario reducido, cáliz y nectario. J-N. Flor funcionalmente pistilada. J. Flor completa. K. Corola desplegada. L. Estilo y estigma. M. Estigma. N. Ovario, cáliz y nectario. O. Fruto maduro globoso. P. Fruto maduro elipsoide. **Ilustración:** Marina Judkevich. B-I de Keller *et al.*, 4436 (CTES). A, J-N de Schinini *et al.*, 28784 (CTES). O-P de Medina & Salas 384 (CTES).

4) *Randia micracantha* (Lillo) Bacigalupo, *Fl. Prov. Jujuy* 9: 388. 1993. *Basanacantha micracantha* Lillo, Prim. Reun. Nac. Soc. Argentina Ci. Nat. 218. 1916. Tipo: Argentina. Tucumán, Monteros, bosque Pueblo Viejo, IX-1905 (PE, fl), *M. Lillo* 4536 (Lectotipo, LIL001565!, designado por Bacigalupo, 1993: 388). (Fig. 54 K-O)

Randia micracantha var. *glabra* Bacigalupo, *Fl. Prov. Jujuy* 9: 391. 1993. nov. syn. Tipo: Argentina: Jujuy. Capital, Alto Lozano a Tiraxi, 3-XI-1974, *M. N. Correa et al.* 6084 (Holotipo SI!).

Subarbusto, arbusto o pequeño árbol de 0,3-4 m de alt., caducifolio, dioico; ramas escasa a densamente pubescentes, con más de dos verticilos de espinas por rama, espinas 2-4 por nudo, cada nudo seguido de un macroblasto o de un braquiblasto, espinas delgadas y quebradizas, leñosas, glabras, oblicuo-ascendentes, 0,4-2,5 × 0,8-1,3 mm. Estípulas deciduas, lóbulos triangulares, 1,6-7 mm long., externamente glabras, internamente pubescentes y con coléteres en la base. Hojas sésiles o cortamente pecioladas, pecíolos 1,4-6,0 mm long.; láminas elípticas u obovadas, rara vez ovadas, 1,3-12,2 × 1,8-5,2 cm, ápice agudo u obtuso, a veces mucronadas, base cuneiforme o atenuada, densamente pubescentes en ambas caras, pubérulas o glabras; con 5-9 venas secundarias a cada lado, pubescentes, ascendentes; sin domacios. Inflorescencia estaminada cimosa, 1 (-2)-flora, en 4-8 braquiblastos axilares o terminales, densamente ubicados, cada uno finalizando en inflorescencias 1-flora, raramente braquiblastos floríferos solitarios. Flor estaminada: 4-5 mera; cáliz lobulado, ovario obcónico, pubescente o hirta, 2-4 mm long., lóbulos angostamente triangulares o subovados, obtusos o apiculados, ápice ciliado o glabro, 1,4-3,2 mm long.; corola lobada, infundibuliforme, tubo verdoso, glabro externamente, internamente con pelos en la garganta, 1,5-3 × 2-3 mm; lóbulos de borde irregularmente revoluto, amarillos-verdosos, 2-4 mm long.; anteras sésiles, conectivo apiculado; estigma liso, 2-lobado, disco nectarífero epígino. Inflorescencia pistilada 1-flora. Flor pistilada: 5(4)-mera, cáliz lobado, ovario elipsoide, pubescente, 2-4 mm long., lóbulos angostamente triangulares o subovados, obtusos o apiculados, ápice recurvo, glabros, borde ciliado, amarillo-verdosos, 1,4-3 mm long.; corola infundibuliforme, tubo verdoso, garganta pubérula o pubescente, ca. 3,1 mm long.; lóbulos amarillo-verdosos, borde revoluto, 2-4 mm long.; anteras indehiscentes, estériles, con tecas apiculadas; estilo con estigma papiloso 2-lobado, ramas estigmáticas ovoides, disco nectarífero epígino. Fruto globoso o elipsoide, pubérulo, verde-grisáceo, 12,2-21 × 9,6-13,8 mm, coronado por el disco y por restos de cáliz, pared del fruto de consistencia coriácea cuando se seca; pared de 0,18-0,29

mm de espesor; semillas suborbiculares, 5-6,3 mm × 3,5-4 mm, comprimidas, inmersas en el tejido placentario.

Distribución y hábitat—e xclusiva de bosques estacionalmente secos y semidecuidos de las Yungas (pedemonte, selvas y bosques montanos de las Yungas Tucumano-Bolivianas), entre los 600 y 2300 msnm. En Argentina habita en las provincias de Jujuy, Salta y Tucumán.

Fenología— flores desde septiembre a diciembre, frutos diciembre a mayo.

Iconografía— Bacigalupo, 1993, fig. 158.

Observaciones— el análisis de los caracteres morfológicos de las subespecies *R. micracantha* y *R. glabra* mostró que las diferencias utilizadas por Bacigalupo (1993) para separar ambas subespecies no son discretas. Se encontraron variaciones graduales desde glabras hasta pubescentes. Por esto, *Randia micracantha* var. *glabra* es aquí tratada como un nuevo sinónimo de la variedad típica.

Material adicional examinado—ARGENTINA. Prov. Jujuy: Dpto. El Carmen, dique Las Maderas, sur de Perico, II-1997 (P, fr), *Protomastro 1230* (CTES, MCNS). Dpto. San Pedro, Ruta Provincial 56, 13-V-1998 (P, fr), *Krapovickas et al. 47412* (CTES). Dpto. Santa Bárbara, Sierras de Maíz Gordo, límite con la provincia de Salta, 24°17'S, 65°11'W, 15-XII-1998 (E, fl), *Ahumada et al. 9025* (CTES, JUA); ídem, El Fuerte, 9-XII-1983 (E, fl), *A. Roitman 779* (CTES, JUA). Prov. Salta: Dpto. Capital, Villa San Lorenzo, Quebrada de Arteaga, finca "Las Costas", 29°44.87'S, 65°30.958'W, 15-I-2014 (P, fr), *Judkevich 48* (CTES); ídem, La Lagunilla, 26- V-1989 (P, fr), *Toledo 2127* (CTES); Dpto. Metán, sin localidad, 8-XII-1946 (P, fr), *Álvarez 126* (CTES, LIL); Dpto. Orán, Orán a Río Bermejo, X-1940 (E, fl), *Schreiter 115454* (CTES, LIL); ídem, Palo de Santo Domingo, tabacal cerca de Orán, 17-VII-1873 (P, fr), *Lorentz & Hieronymus s.n.* (CORD); Dpto. San Martín, Aguaray, 21-IX-2012 (E, fl), *Salas 491* (CTES); Dpto. Santa Victoria, Los Toldos, 7 Km antes de llegar a Lipeo, 15-IX- 1972 (E, fl), *Mármol et al. 9300* (CTES, LIL). Prov. Tucumán: Dpto. Capital, VII-1901 (E, fl), *Lillo 2834* (CORD, LIL); ídem, ruta hacia Cristo de San Javier, 14-IX-2005 (P, fr), *Keller 3149* (CTES); Chicligasta, puerto Santa Rosa, 28-II-1950 (P, fr), *Meyer 15502* (CTES); Monteros, S de El Mollar, 9-XI-1974 (E, fl), *R. Subils 2058* (CORD).

BOLIVIA. Dpto. Chuquisaca: Prov. Luis Calvo, El Salvador- CIMBOC, 3 km S de Isirenda, 20°41'S, 63°11'W, 10-IV-1993 (P, fr), *Toledo et al. 11596* (CTES). Dpto. Cochabamba: camino de Mizque a Aiquile, sendero cercano al cerro Ork'o, Abuelo, 30-X-1992 (E, fl), *Antezana 423* (CTES). Dpto. Santa Cruz: Provincia Cordillera, Cerca Cuevo,

adentro la sierra por la planchada antigua de Chevron, 19°00'00"S, 61°30'00"W, 1385 m, 29 XII 1994, A. *Jardim 1520* (MO, USZ). Provincia Florida: La Yunga de Mairana (8 km al norte de Mairana), tramo de 2 km al N por el camino hacia La Quebrada, 18°05'42"S, 63°54'55"W, 1950 m, 29 VI 2000, I.G. *Vargas C. & L. Rioja 4562* (MO, NY, USZ). Prov. Vallegrande, camino a Vallegrande, 3 km NW de Cochabambita, 18°13'S, 64°12'W, 28-XII-1988 (P, fr), *Saldias 538* (CTES, USZ). Dpto Tarija: Prov. Arce, comunidad Guavillas, 23.8 km S of Padcaya on road to Bermejo, 21°59'S, 64°40'W, 27-IV-1983 (P, fr), *Solomon 10187* (BR, CTES, K, LPB, MO, PTBG, SI, US); Cuesta del Tambo, entre el Tambo y Narvaes, 11-VI-1873 (P, fr), *Lorentz & Hieronymus 889* (CORD). Provincia O'Connor: 21.5 km E of Narvaez on road to Entre Ríos (6.9 km W of Entre Ríos), disturbed moist sub-tropical forest, 21°29'S, 64°13'W, 1350 m, 5 X 1983, J.C. *Solomon 11063* (BR, CTES, GB, K, LPB, MO, PTBG, SI, US).

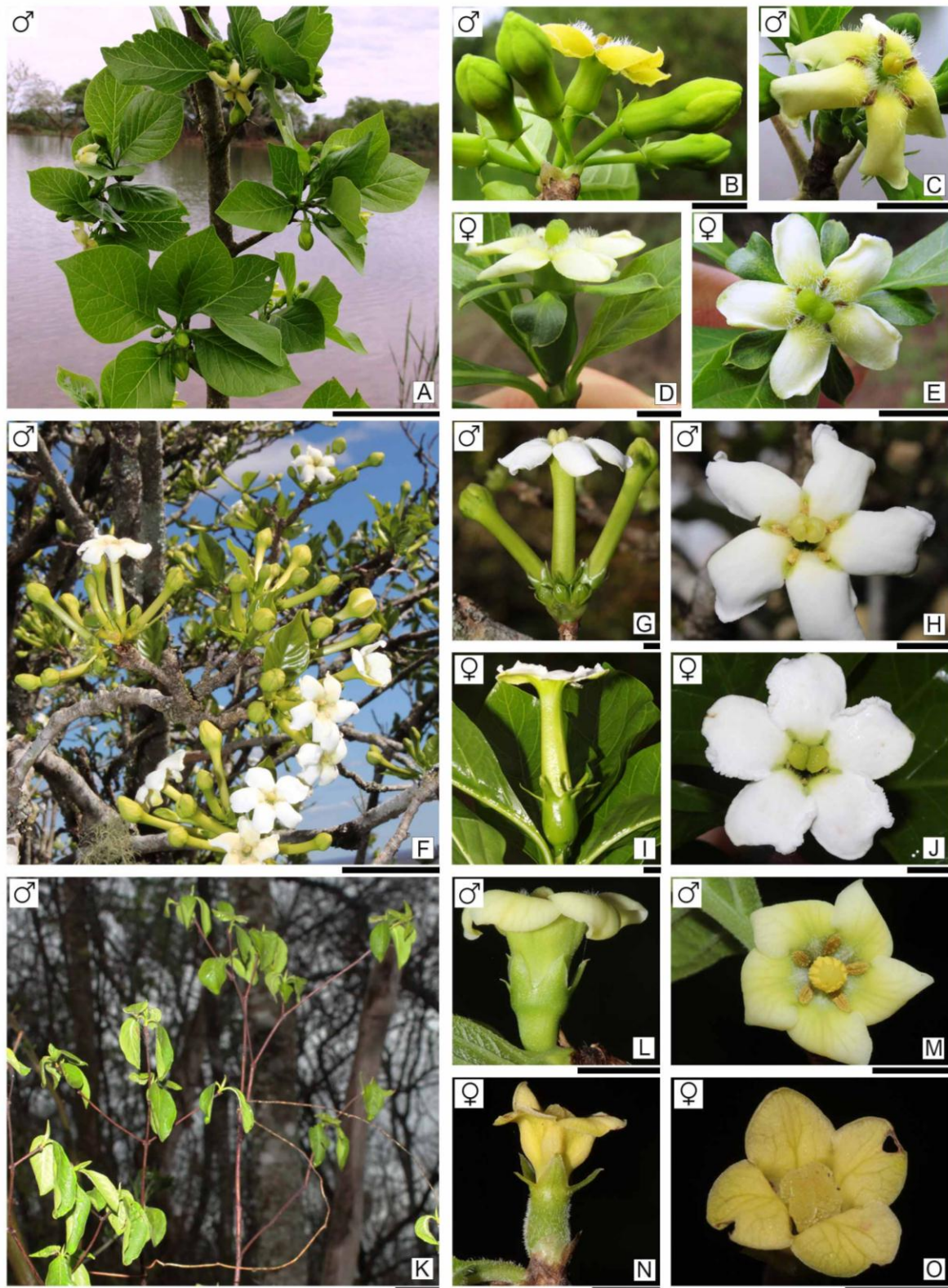


FIGURA 54. *RANDIA* SPP. A-E. *Randia brevituba*. A. Rama con flores funcionalmente estaminadas. B, D. Flor completa. C, E. Vista superficial de la corola. F-J. *R. ferox*. F. Rama con flores funcionalmente estaminadas. G, I. Flor completa. H, J. Vista superficial de la corola. K-O. *R. micracantha*. K. Rama con flores funcionalmente estaminadas. L, N. Flor completa. M, O. Vista superficial de la corola. Escalas: A, F, K= 5 cm; B-E, G-J, L-O= 5 mm.

5) *Randia sp. nov.* — TIPO: Argentina. Corrientes: Capital, Riachuelo, sobre RN 12, km Sur de Corrientes Capital, en vías abandonadas del tren, 27°33'7.7S, 58°45'7.75, 51 m, 17 Set 2014, *M.D. Judkevich & R.M. Salas 56* (Holotipo: CTES; Isotipo: SI) (Fig. 55)

Árbol, arbolito o arbusto, 0,8–4 (-6) m alt., ramas opuestas con 3-4 espinas por nudo, glabras, 5,6–16,1 × 1,4–2,8 mm. Estipulas triangulares u ovadas, con ápice agudo o acuminado, generalmente mucronadas, 3,5-6,4 × 2,4-5,2 mm, margen ciliado, externamente glabras, internamente con coléteres y tricomas simples en la base. Hojas heteromorfas, pecioladas; pecíolo 0,5–12,6 mm long, pubérulo; lámina elíptica, ovada u obovada, a veces reducida y entonces orbicular o irregularmente circular, incluso en la misma rama, especialmente evidente en renovales, 35,9–70,0 × 18,8–38,3 mm, ápice generalmente mucronado, glabra o pubérula, venas pubérulas o pubescente; 4-7 secundarias de cada lado visibles, ascendentes, domacios ausentes. Inflorescencia terminal, fasciculada, estaminadas 3-8 floras, pistiladas 1-floras. Flores pistiladas 5-meras, estaminadas 4-6 (-7) meras, ambas muy fragantes; flores estaminadas 10,8–21,4 mm long., pediceladas, pedicelo 1,6–6,7 mm long., ovario obcónico, glabro o pubérulo, cáliz 5-lobado (raramente 4 o 6-7 lobado), lóbulos ovados, iguales o subiguales, glabrous, con margen ciliado, 3,1–5,9 × 1,4–2,6 mm, corola hipocraeriforme, tubo verde, externamente glabro, internamente pubérulo desde la mitad del tubo hasta la base de los lóbulos, base de lóbulos corolinos, 11,5–14,7 × 2,1–2,8 mm; lóbulos blancos, obovados, ápice redondeado, margen ligeramente ondulado, 6,6–11,1 × 5,9–9,0 mm; pistiloide parcialmente exserto, estigma liso, bífido, lóbulos ovoides; disco nectarífero epígino; estambres parcialmente exsertos, anteras sésiles, 4,5–5,2 mm long.; polen en tétrades permanentes; flores pistiladas pediceladas, pedicelo 0,9–2,7 mm long., ovario urceolado, glabro o pubérulo, 8,2–10,3 × 3,5–4,3 mm, cáliz 5-lobado, lóbulos ovados, iguales, glabros en ambas caras, margen ciliados, 2,9–4,4 × 1,7–2,9 mm, corola hipocrateriforme, tubo verde, externamente glabro o pubérulo, internamente pubérulo desde la mitad del tubo hasta la base de los lóbulos, 10,6–14,4 × 2,1–3,1 mm, lóbulos blancos, obovados, ápice redondeado, margen ligeramente ondulado, 6,6–9,3 × 5,5–8,1 mm, anteras parcialmente exsertas, sésiles; 1,8–2,8 mm long., estilo parcialmente exserto, glabro; estigma bífido, lóbulos estigmáticos ovados, papilosos; disco nectarífero epígino. Fruto generalmente obovoide o globoso, 22,0–27,4 × 14,8–17,2 mm, pedicelo 4-7 mm long.; pericarpo 0,8–1 mm de espesor, coriáceo; semillas de contorno obovado, discoideas, 7,1–8,8 mm long., nigrescentes, inmersas en una pulpa gelatinosa.

Distribución y hábitat— hasta el presente todas las colecciones de *Randia sp. nov.* pertenecen a Argentina y Paraguay. En Argentina, crece en NO Corrientes (Dpto. Berón de Astrada, Capital, Concepción, General Paz, Itatí, Mburucuyá, Saladas, San Cosme, and San Luis del Palmar), E Chaco (Dept. General Paz y Primero de Mayo), N Santa Fe y Formosa (Dept. Formosa, Pilagá, Pilcomayo, and Pirané), una sola colección de Misiones (Dept. Posadas). En Paraguay habita en los departamentos de Amambay, Central, Cordillera, Ñeembucú, y Presidente Hayes. Su presencia en Bolivia es probable, debido a que la región chaqueña se extiende hacia esos países. Todos los especímenes de esta especie fueron colectados a lo largo de formaciones boscosas que siguen a los principales ríos de la región y de muchos de sus tributarios, especialmente en los bosques ubicados sobre los albardones o lomadas arenosas en paleocauces actualmente inundados de manera excepcional. Los principales elementos leñosos son *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, *Astronium balansae* Engl., *Calycophyllum multiflorum* Griseb., *Cordia americana* (L.) Gottschling & J.S. Mill., *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, *Gleditsia amorphoides* (Griseb.) Taub., *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos, y *Hexachlamys edulis* (O. Berg) Kausel & D. Legrand. Algunas pocas colecciones provienen de bosques de *Schinopsis balansae* Engl.

Fenología— esta especie florece desde Julio a Octubre, tiene frutos a lo largo del año.

Observaciones— *Randia sp. nov.* se distingue de las demás especies del Cono Sur de Sudamérica por sus frutos que son notoriamente pedicelados. Fuera del área de estudio, es similar a *Randia nitida* (Kunth) DC. (tipo de Colombia), de la cual difiere porque esta última tiene hojas con 7-10 venas secundarias y terciarias prominentes en ambas caras en material seco (versus hojas con 4-7 venas secundarias y terciarias escasamente visibles en cara abaxial), y por la longitud de los lóbulos del cáliz [2,6-2,9 mm (FFE) versus 3-5,9 mm long (S)] y del tubo corolino [7-10 mm long (S) versus 11.5-14.7 mm long (S)].

Material adicional examinado—ARGENTINA. Chaco: Depto. Primero de Mayo, Colonia Benítez, en bosque, 16-III-1930 (P, fr), A.G. Schulz 12 (CTES, SI); ídem, bosque ribera del Río Tragadero, I-1932 (P, fr), A.G. Schulz 501 (CTES); ídem, IX-1938 (E, fl), A.G. Schulz 9723 (CTES); ídem, 28-IX-1965 (E, fl), A.G. Schulz 15196 (CTES); ídem, VI-1970 (P, fr), P. Insfrán 149 (CTES); ídem, Reserva INTA, 26-IX-1945 (E, fl), A.G. Schulz 6360 (CTES); ídem, Reserva INTA, sobre laguna, 24-IX-1964 (E, fl), A.G. Schulz 13995 (CTES); ídem, Reserva INTA, 24-IX-1964 (E, fl), A.G. Schulz 1995 (CTES); ídem, Margarita Belén, La Loma, 30-VIII-1942 (E, fl), A.G. Schulz 3486 (CTES, LIL); ídem, 14-

X-1946 (P, fr), *R. Aguilar 915* (CTES, LIL). Corrientes: Depto. Berón de Astrada, 46 Km W de Itá Ybaté, Valencia, en selva, 15-I-1977 (P, fr), *A. Schinini 13984* (CTES). Depto. Capital, RN 12, 20 Km de Corrientes, "Granja Yatay", 22-I-1976 (p, fr), *A. Schinini 12512* (CTES); ídem, 5 Km E de Laguna Brava, 6-IX-1970 (E, fl), *A. Krapovickas & C.L. Cristóbal 15849* (CTES); ídem, Riachuelo, 16-IX-1973 (E, fl), *C.L. Cristóbal & A. Schinini 1083* (CTES); ídem, borde de arroyo, 16-X-1986 (P, fl), *E.L. Cabral 491* (CTES); ídem, 10 Km SE de Corrientes, 1 Km pasando sobre el Arroyo Riachuelo, 27°30'S-58°50'W, 60 m, 29-IX-1987 (E, fl), *C.L. Cristóbal & A. Schinini 59461* (CTES, MO). Depto. Concepción, Tabay, 28-III-1975 (P, fr), *M.M. Arbo et al. 968* (CTES); ídem, 11 Km NW de Santa Rosa, borde isleta de selva, 14-XII-1977 (P, fr), *S.G. Tressens et al. 849* (CTES); General Paz, Capillitas, 29-IX-1965 (fl, P), *T.M. Pedersen 7054* (CTES, SI); Itá Ibaté, 12-X-1949 (E, fl), *G.J. Schwarz 8214* (CTES, LIL). Depto. Itatí, RN 12, 21 Km del desvío a Itatí, en selva marginal del Río Paraná, 17-II-1983 (P, fr), *A. Schinini & R. Carnevali 23284* (CTES); ídem, La Palmira, 17-II-1983 (P, fr), *Carnevali 6039* (CTES). Depto. Mburucuyá, Estancia Santa Teresa, 5-I-1954 (P, fr), *R. Carnevali 324* (CTES). Depto. Saladas, Pago de los Deseos, 2-XII-1949 (P, fr), *G.J. Schwarz 8956* (CTES, LIL). Depto. San Cosme, Río Paraná y Arroyo San Juan, orilla de monte, 25-V-1975 (P, fr), *A. Schinini & C. Quarín 11523* (CTES) ídem, Paso de la Patria, camino a Puerto González, 16-V-1967 (P, fr), *A. Krapovickas & C.L. Cristóbal 13110* (CTES); ídem, 5 Km E del camino a Paso de la Patria, 6-I-1966 (P, fr), *A. Krapovickas & C. L. Cristóbal 11881* (CTES); ídem, camino a Paso de la Patria, barrancas del Paraná, 30-X-1966 (fr), *A. Burkart 26619* (SI); ídem, desvío a Puerto González, 9 Km del cruce con camino a Paso de la Patria, 19-IX-1971 (E, fl), *S.G. Tressens et al. 192* (CTES). Depto. San Luis del Palmar, 10 Km SE de San Luis del Palmar, Ruta 6, 26-IX-1973 (E, fl), *C. Quarín & S. G. Tressens 1341* (CTES). Formosa. Depto. Formosa, Estancia El Ombú, 26°4'22"S, 58°48'16"W, 17-XII-2004 (fr), *H. Maturo & D. Prado 229* (BM, CTES, FCQ, G, MO, SI, UNR). Depto. Laishi, San Francisco de Laishi, Reserva El Bagual, 8-IX-1996, *A. Digiacoimo 268a* (CTES); ídem, Villar Escobar, campo de Insfrán, margen del Río Bermejo, 26°28'12"S, 58°52'53"W, 72 m, 18-X-2011, *S.A. Contreras & A. Lutz 31* (CTES). Depto. Patiño, El Cogoik, 19-II-2004, *S.G. Tressens et al. 6892* (CTES). Depto. Pilagá, 4 km E de Espinillo, 1-I-1949, *I. Morel 7815* (CTES, LIL); Espinillo, 16-II-1949, *I. Morel 7195* (CTES). Depto. Pilcomayo, Mercado Cui, 12-XI-1986, *Vargas s.n.* (CTES0124765); ídem, 12 km SW de Filipina, Estancia Salaberry, 18-XI-1949, *I. Morel 8904* (CTES, LIL). Depto. Pirané, Pirané, 13 km SW Estancia Ferrocarril Los Matacos, 28-X-1981, *A.O. Bordón s.n.*

(CTES0415534); ídem, El Colorado, I-1971, *P. Insfrán 778* (CTES). Misiones: Depto. Capital, Posadas, 22-IV-1945, *M. Bertoni 1317* (CTES, LIL). Santa Fe: Depto. General Obligado, NE de Villa Guillermina, 15-X-1995 (fl, S), *L. Zanuttini 38* (CTES, SF).

BRAZIL. Mato Grosso do Sul: Corumbá, Povoado do Amolar, RPPN Eliezer Batista, Floresta con *Acrocomia aculeata*, 28-XII-2010, *R. Borges 1021* (CEN); ídem, Fazenda Coqueiro, Estrada M.S para forte Coimbra a 20 km da BR 262, jacadigo, 14-XII-1986, *C.N. Cunha et al. 2121* (UEC); Miranda, 11-IV-2004, *G.O. Romão et al. 1075* (ESA, HUEFS); ídem, *G.O. Romão et al. 1073* (CEN).

PARAGUAY. Amambay: Bella Vista, Río Apa y Arroyo Estrella, 25-VIII-1980 (E, fl), *A. Schinini & E. Bordas 20685* (CTES); ídem, Cerro Corá, en selva marginal del Río Aquidabán, 21-VIII-1980 (E, fl), *A. Schinini & E. Bordas 20299* (CTES). Central, Lago Ypacaraí, a orillas del bosque, sin fecha, (P, fr), *N. Soria 1843* (CTES); ídem, Emboscada, afloramientos rocosos, XII-1979, *A. Schinini 4170* (CTES); Tobatí, Ybitú Silla, Southern area, forest on slopes facing south, 25°12'S, 57°07'W, 9-III-1991, *E. Zardini & U Velázquez 26993* (FCQ, MO). Concepción, 1 km W de Ruta Loreto-Paso Barreto, 23°14'11.9"S, 57°14'23.7"W, 120, 4-III-2009, *H.A. Keller et al. 6607* (CTES, SD); Estancia Bello Horizonte, tall forest and savanna on limestones, 22°47'50"S, 57°25'31"W, 150 m, 29-I-1994, *E. Zardini & L. Guerrero 39682* (AS, MO); Estancia Santa María, 1 km S of administration, gallery forest, 22°44'S, 57°28'W, 16-III-1994, *E. Zardini & L. Guerrero 38808* (AS, MO); 2 km N of Arroyo Tagatiyá-Guazú, savanna woodland on limestones, 22°46'S, 57°26'W, 15-III-1994, *E. Zardini & T. Tilleria 38711* (AS, MO); in glareosis siccis prope Concepcion, IX-1901/1902, *E. Hassler 7313* (G00229794). Cordillera, Cerro Caacupé, Barrio Kennedy, 25-I-1987 (P, fr), *E. Bordas 4090* (CTES); ídem, camino de Caacupé a Tobaty, 3-II-1978, *A. Schinini 14594* (CTES); ídem, 8 Km del pueblo, en bosque, 20-V-1975 (P, fr), *P. Arenas 11232* (CTES); ídem, San Bernardino, lomada, I-1968 (P, fl), *A. Schinini 2083* (CTES); ídem, Cerrito San Bernardino, orillas de montes, X-1915 (fl, S), *E. Hassler 1527* (SI); ídem, VIII-1915 (fl, S), *E. Hassler 339* (SI); ídem, VII-1915 (fl, S), *E. Hassler 323* (SI), ídem, X-1915, *E. Hassler 323* (SI); ídem, Costa del Lago Ypacaray, 14-X-1973, *C. Quarín et al. 1571* (CTES); ídem, VIII-1901/1902, *E. Hassler 3111* (G00229777). Ñeembucú, Distrito de Guazú-cuá, Estancia de Amancio Santa Cruz, 26°58'46.4"S, 57°48'15.8"W, 31-VIII-2004 (P, fl). *C. Vogt 175* (CTES); ídem, Humaitá, bosque ribera del Río Paraguay, 12-XII-1950 (P, fr), *A.G. Schulz 7744* (CTES). Paraguari: Pirayú, Cerro, ca. 280 m, *R. Duré 125* (CTES); ídem, 9-II-1983 (P, fr), *L. Pérez de Molas 124* (CTES); Cordillera de Ybytyruzú, Cerro Peró, 1 km W of

Destacamento Tororo, forest on western side of Cerro Perú, 25°55'S, 56°15'W, 13-I-1989, *E. Zardini & A. Aguayo 9530* (FCQ, MO); Paraguarí, Costa II, Cerro Palacios, 29-I-1988, *I. Basualdo 1344* (MO). Presidente Hayes: Estancia Santa Asunción, 23°54'39"S, 58°34'49"W, 12-II-2004, *J. De Egea & M. Peña Chocarro 237* (BM, CTES, FCQ, G, MO, UNR); ídem, km 200 Ruta Transchaco, 23°54'40", 58°34'50", 12-X-2003 (fr.), *M. Peña-Chocarro 1466* (BM, MO, FCQ); ídem, Estancia Santa Asunción, Arroyo Conchita, 23°34'59"S, 57°56'36"W, 23-III-1995, *R. Degen & F. Mereles 3253* (CTES, FCQ); ídem, Estancia Ñ, 24°16'47"S, 58°33'18"W, 1-II-2005, *J. De Egea & M. Peña Chocarro 756* (BM, FCQ, MO); Ruta Concepción – Pozo Colorado, Estancia Loma Porá, a 5 km del casco de la Estancia, en bosque, 08-I-1995, *R. Degen & F. Mereles 3324* (FCQ, MO); Pozo Colorado, en las cercanías, bosque de *Schinosis balansae*, 15-IV-1994, *F. Mereles & R. Degen* (FCQ, MO). San Pedro: Estancia del Sr. Serrati, a 1000 del casco de la Estancia, orillas de bosques, IX-1992, *N. Soria 5298* (FCQ, MO).

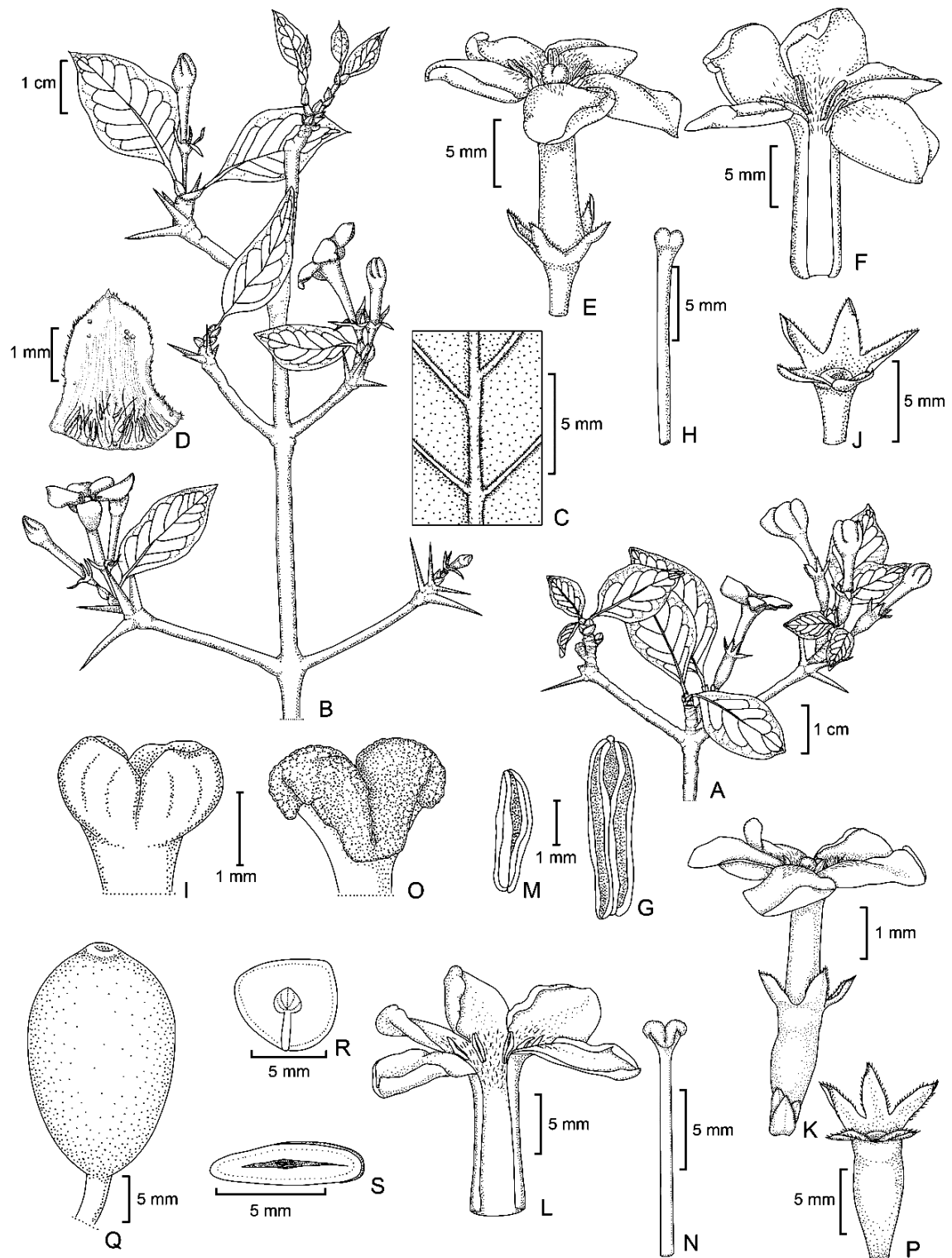


FIGURA 55. *RANDIA SP. NOV.* A. Rama con flores funcionalmente pistiladas. B. Rama con flores funcionalmente estaminadas. C. Detalle de la cara abaxial de la hoja. D. Detalle de la cara interna de la estípula con coléteres. E-J. Flor funcionalmente estaminada. E. Flor completa. F. Corola desplegada. G. Antera. H. Estilo y estigma. I. Detalle del estigma. J. Detalle del ovario reducido, cáliz y nectario. K-P. Flor funcionalmente pistilada. K. Flor completa. L. Corola desplegada. M. Antera estéril. N. Estilo y estigma. O. Detalle del estigma. P. Detalle del ovario, cáliz y nectario. Q. Fruto maduro. R. Semilla en corte longitudinal. S. Semilla en corte transversal. **Ilustración:** Marina Judkevich. A, K-P de Judkevich *et al.*, 68, B- E-J de Judkevich *et al.*, 67.

PRESENCIA DE *RANDIA ARMATA* EN ARGENTINA Y SUS DIFERENCIAS CON LAS DEMÁS ESPECIES QUE HABITAN EN EL CONO SUR DE SUDAMÉRICA

Luego de examinar el lectotipo (*Jacquin s.n.*; Colombia: Bolívar: vicinity of Cartagena, and Martinique, Jacq., *Select. Stirp. Amer. Hist.* t. 49. 1763, designado por Taylor & Lorence, 1993) y materiales adicionales de herbario, se encontraron dos caracteres diagnósticos que son relativamente fáciles de usar para su distinción en el área de estudio. En *Randia armata*, el ápice del botón floral en pre-antesis es angostamente piriforme (en flores pistiladas y estaminadas) y el tubo de la corola es filiforme con alrededor de 1 mm de ancho, mientras que en las otras especies (*R. brevituba*, *R. calycina*, *R. ferox*, *R. micracantha* y *Randia sp. nov.*) el ápice del botón es ovoide, hemiesférico, deltoide, redondeado u obtuso respectivamente, mientras que el tubo de la corola es mayor en todas las especies, desde 2 a 6 mm de ancho (Fig. 56). Otras características morfológicas para distinguir a *R. armata* del resto de las especies que habitan en el Cono Sur se presentan en la Tabla 9. Por esta razón, se considera a *Randia armata* fuera del área de estudio, su presencia en nuestra región resulta improbable debido a que es una especie amazónica que habita N Brasil, Venezuela, Colombia, y las Guyanas.

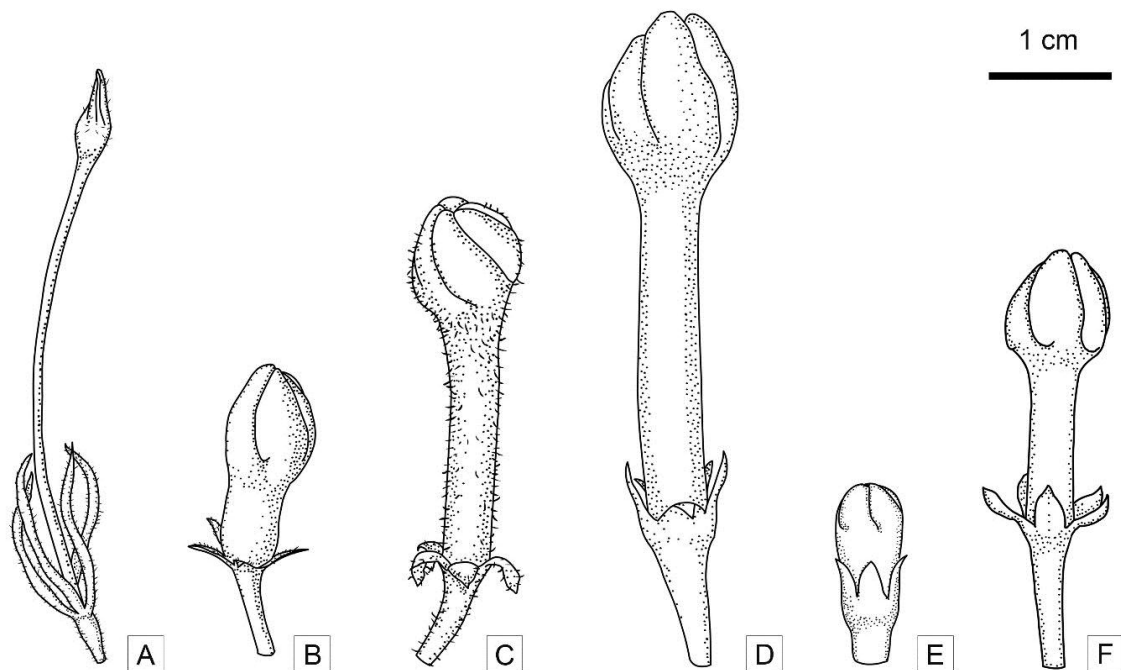


FIGURA 56. COMPARACIÓN DEL TAMAÑO Y FORMA DEL BOTÓN DE FLOR FUNCIONALMENTE ESTAMINADA DE ALGUNAS ESPECIES DE *RANDIA*. A. *R. armata*. B. *R. brevituba*. C. *R. calycina*. D. *R. ferox*. E. *R. micracantha*. F. *R. sp. nov.*

TABLA 9. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL PERIANTO QUE DISTINGUEN A *R. ARMATA* DE LAS ESPECIES DE *RANDIA* QUE HABITAN EN ARGENTINA.

Especies	Forma de los lóbulos del cáliz	Longitud de los lóbulos del cáliz	Ápice del botón floral	Longitud de la corola	Diámetro del tubo de la corola
<i>Randia armata</i>	angostamente elípticos	5-9 mm	angostamente piriforme	20-26 mm	ca. 1 mm
<i>Randia brevituba</i>	espatulados, elípticos, angostamente obovados o triangulares	1,8-8,8 mm	ampliamente ovoide	5-15 mm	2-3,5 mm
<i>Randia calycina</i>	espatulados, elípticos o angostamente obovados	3-7 mm	ovoide u obtusos	17-23 mm	1,5-2,2 mm
<i>Randia ferox</i>	obovados o angostamente triangulares	6-20 mm	ovoide, raro deltoide	28-50 mm	2,5-5 mm
<i>Randia micracantha</i>	angostamente triangulares o subovados	2-4 mm	inconspicuo y obtuso	3,5-8 mm	2-4 mm
<i>Randia sp. nov.</i>	obovados o angostamente triangulares	3-6 mm	ovoide u obtuso	10-14 mm	2-3 mm

ESTUDIOS POLÍNICOS EN LAS ESPECIES DE *RANDIA* DEL CONO SUR DE SUDAMÉRICA

Las cinco especies presentaron tétrades tetraédricas y decusadas (Fig. 57), siendo las primeras las más abundantes. Solo en *R. brevituba* se observaron algunas tétrades planares (Fig. 57 B). Los granos de polen individuales son simétricos y cada uno presenta tres poros circulares. Las diferencias entre las especies se dieron a nivel de tipo de exina. En las tétrades de todas las especies analizadas se observó que la exina es discontinua en la unión entre las mónades, por lo que son del tipo acalimadas. Caracteres adicionales son resumidos en la Tabla 10.

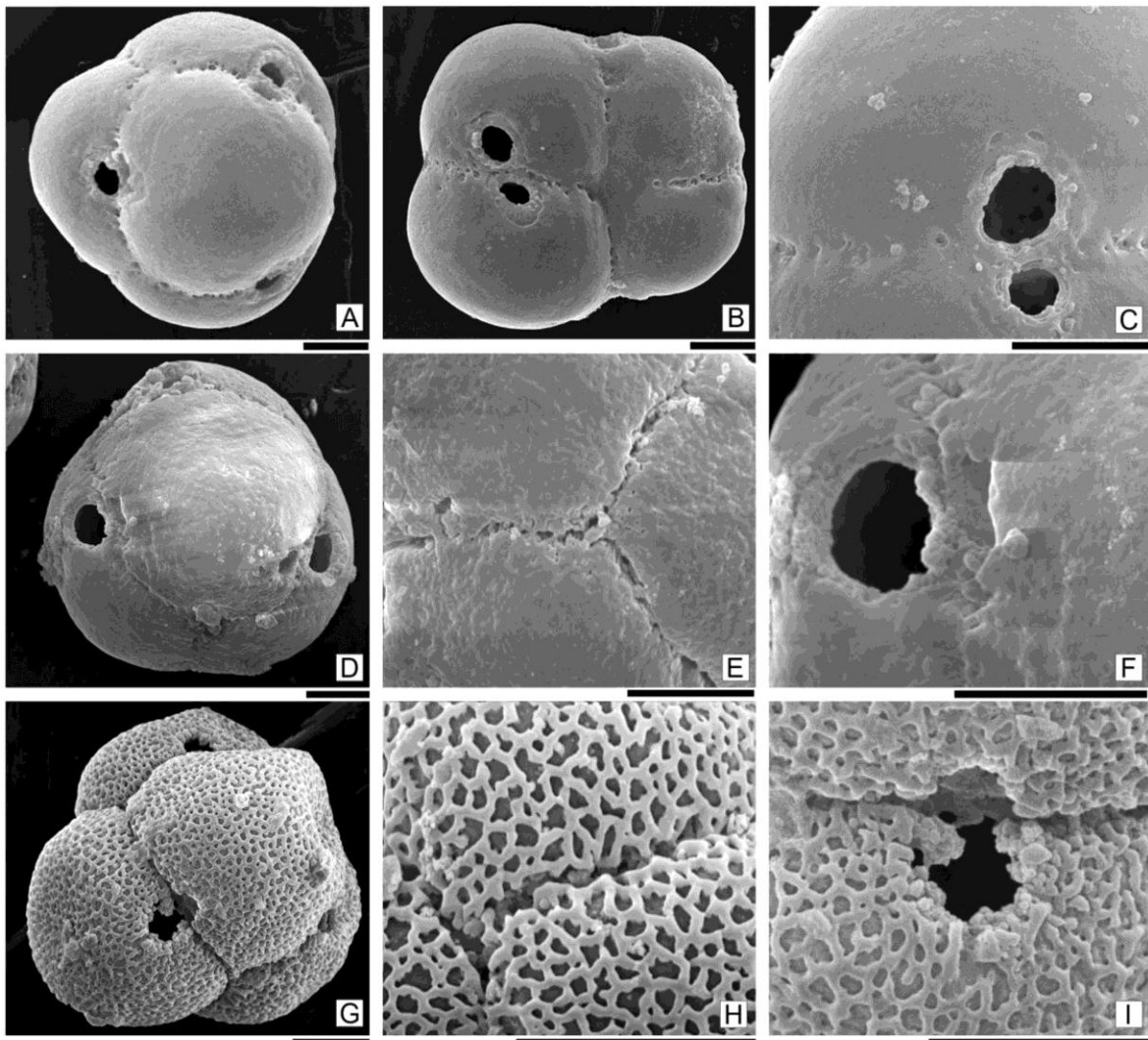


FIGURA 57. MORFOLOGÍA DEL POLEN. A-C. *R. brevituba*. D-F. *R. ferox*. G-I. *R. micracantha*. A, D. Tétrade tetraédrica. B. Tétrade planar. G. Tétrade decusada. C. Detalle de la exina y poros. E, H. Detalle de la exina. F, I. Detalle de poros. Escalas: 10 μ m.

TABLA 10. MORFOLOGÍA Y UNIDAD DE DISPERSIÓN DEL POLEN EN LAS ESPECIES ANALIZADAS DE *RANDIA* (los datos de *R. calycina* y *Randia sp. nov.* fueron detallados en el capítulo II). **Referencias:** DT= diámetro de tétrade, DEG= diámetro ecuatorial del grano de polen, EPG= longitud del eje polar del grano de polen.

Espece	Unidad de dispersión	Dimensiones del grano de polen (μm)	Forma del grano	Exina	Aberturas
<i>Randia brevitiba</i> (Fig. 48 A-C)	Tétrades tetraédricas DT: 50,8-63,3 μm	EPG: 22,4-35,3 DEG: 34,7-44,11	Oblado- esferoidal	Psilada. Espesor: 1,1-1,5 μm	Tres poros circulares por grano
	Tétrades decusadas DT: 54,5-60,3 μm	EPG: 22,2-30,6 DEG: 34,6-42,1			
	Tétrades planares DT: 50,0-70,0 μm	EPG: 30,0-37,6 DEG: 35,2-43,1			
<i>Randia calycina</i>	Tétrades tetraédricas DT: 43,0-63,0 μm	EPG: 27,3-29,8 DEG: 32,7-33,7		Psilada a foveolada. Espesor: 1,2-1,5 μm	
	Tétrades decusadas DT: 55,1-56,4 μm	EPG: 27,6-28,8 DEG: 33,0-34,2			
<i>Randia ferox</i> (Fig. 48 D-F)	Tétrades tetraédricas DT: 56,2-66,9 μm	EPG: 28,5-39,9 DEG: 41,3-48,8		Psilada. Espesor: 1,5-2,2 μm	
	Tétrades decusadas DT: 53,4-66,0 μm	EPG: 30,4-36,0 DEG: 42,6-48,3			
<i>Randia micracantha</i> (Fig. 48 G-I)	Tétrades tetraédricas DT: 42,9-56,2 μm	EPG: 26,9-28,8 DEG: 34,4-39,8		Reticulada. Espesor: 1,9-3,0 μm	
	Tétrades decusadas DT: 45,3-54,6 μm	EPG: 24,7-29,4 DEG: 35,5-39,3			
<i>Randia sp. nov.</i>	Tétrades tetraédricas DT: 53,5-65,6 μm	EPG: 26,0-36,7 DEG: 37,2-45,1		Psilada a foveolada. Espesor: 1,0-1,7 μm	
	Tétrades decusadas DT: 57,3-62,9 μm	EPG: 27,6-32,9 DEG: 36,4-44,1			

DISCUSIÓN

En Argentina se reconocían solo dos especies del género *Randia*: *R. ferox* del NEA y *R. micracantha* del NOA. En este trabajo se describen dos especies nuevas: *R. brevituba*, restringida a Misiones, en Argentina y Paraguay Oriental, y *Randia sp. nov.*, abundante en el NEA, Paraguay Oriental, alcanzando como punto más septentrional Mato Grosso do Sul, Brasil. Además se cita una quinta especie para Argentina, *R. calycina*, distribuida en el E de Formosa y NE de Chaco, antes solo conocida para Paraguay y Brasil. Esta nueva cita representa el límite austral de la distribución para dicha especie.

Por otro lado, para la región del Cono Sur de Sudamérica, se mencionó durante mucho tiempo la presencia de *Randia armata* como nativa. En los principales herbarios regionales (AS, CTES, CORD, FCQ, LIL, PY, SI), la mayoría de los ejemplares de estas especies son erróneamente identificados como *R. armata* (algunas veces como sus sinónimos *R. spinosa nom. illeg.* o *Basanacantha spinosa*).

El trabajo más completo sobre aspectos nomenclaturales de *Randia armata* fue realizado por Taylor & Lorence (2005). Ellos utilizaron el nombre *R. armata* para arbustos o pequeños árboles espinosos morfológicamente muy variados, supuestamente distribuidos desde México y Las Antillas hasta Paraguay. Los autores revisaron los trabajos nomenclaturales extensivamente, reportando la taxonomía de esta especie como muy problemática. Ellos realizaron una lectotipificación con una ilustración de Jacquin (lectotipo: “ícono en Jacquin, Select. Stirp. Amer. Hist.: t. 49. 1763”). Se considera en el presente trabajo a este lectotipo como útil para distinguir esta especie de las otras especies del Cono Sur de Sudamérica pero solo cuando los especímenes portan flores. El análisis comparativo entre material de *R. armata* de Centroamérica (comprende la localidad tipo) con material del Cono Sur de Sudamérica, demostró que esta especie no habita el área de estudio coincidiendo con lo propuesto por Delprete *et al.* (2005). En especímenes que portan frutos, se carece de información fehaciente que permita identificarlos como *Randia armata*, y de esta manera establecer su distribución geográfica actual y otros caracteres que resulten diagnósticos para la especie. Por lo tanto, es necesario para esta especie ampliamente citada en la literatura, la designación de un epítipo.

En cuanto a los estudios polínicos, se confirma la presencia de la liberación de tétrades permanentes como fuera previamente mencionado por Persson (1993). En este carácter, el aspecto más relevante es la estructura de exina, que permite diferenciar a dos linajes. Por un lado, cuatro de las cinco especies tienen tétrades psiladas (*R. brevituba*, *R.*

calycina, *R. ferox* y *Randia sp. nov.*), mientras que una especie, *R. micracantha* tiene exina semitectada reticulada. Además del polen, ambos grupos se diferencian también por la disposición de las espinas (rama con un único nudo de espinas vs. ramas con dos o más nudos de espinas) y el ambiente donde crecen (áreas boscosas o abiertas estacionalmente anegables chaqueños y/o paranaenses vs. bosques estacionalmente secos subandinos). Estos aportes apoyan fuertemente los datos obtenidos por Gustafsson & Persson (2002), quienes demostraron que en la concepción actual *Randia* es un taxón parafilético con tres linajes diferentes, cuyas especies aparecen entremezcladas con otros géneros de *Gardenieae* morfológicamente bien delimitados (Ej. *Tocoyena* Aubl., *Sphinctanthus* Benth. y *Rosenbergiodendron* Fagerl.). Los autores diferencian a los linajes de la siguiente manera: primer linaje corresponde a *Randia s.s.* (incluye a la especie tipo, *Randia aculeata* L.), presenta especies centroamericanas y caribeñas con el cáliz cupuliforme; segundo linaje Sudamericano, habita principalmente en bosques de terrenos bajos, temporalmente inundados y se diferencia por tener flores grandes, blancas y muy fragantes; tercer linaje consta de especies exclusivas de los Andes sudamericanos cuyas flores son pequeñas, con escaso aroma y de color verde-amarillento. De los tres linajes de *Randia*, dos habitan el área de estudio y están representados aquí por el grupo *R. brevituba*, *R. calycina*, *R. ferox* y *R. sp. nov.* (linaje Sudamericano) y por *R. micracantha* (linaje Andino). Desde el punto de vista taxonómico, estos últimos dos linajes podrían ser considerados como dos géneros nuevos, sin embargo se necesitan futuros estudios para confirmar o rechazar esta hipótesis (e.g. ampliación del número de especies en análisis moleculares, evolución de caracteres morfológicos, etc.).

En cuanto a su distribución, las especies presentan marcadas diferencias en los tipos de vegetación donde se habitan. *Randia micracantha* es una especie marcadamente andina debido a que todos los especímenes provienen de la Selva Tucumano-Bolivia (Yungas). Habita en bosques estacionalmente secos como el Pedemonte y la selva de Transición, en incluso en bosques montanos semicaducifolios (según Cabrera, 1974), tanto de Argentina como Bolivia. En el Cono Sur, dos especies son eminentemente chaqueñas, *R. calycina* y *Randia sp. nov.* Ambas especies crecen en el Chaco Húmedo, o también llamado Oriental, siguiendo los principales ríos (Río Paraguay y Paraná Medio). Por otro lado, *R. ferox* puede ser considerada la única especie Paranaense (Bosques Atlánticos), debido a que tanto en Misiones, Argentina, como Sur de Brasil, se la ha encontrado numerosas veces en Bosques de *Araucaria* y en Bosques Paranaenses estacionalmente secos. En Paraguay, solo fue colectada en el extremo este de Paraguay Oriental, tanto en bosques atlánticos (e.g. en

áreas cercanas a Itaipú) como en la región ecotonal entre Bosque Atlánticos y el Cerrado en el Parque Nacional Mburucuyá, Canindeyú. La única especie escasamente conocida en cuando a los tipos de vegetación donde habita es *R. brevītuba* debido a su carácter de pionera. Se conocen hasta el presente tres áreas donde habita, en Argentina, San Ignacio, en Paraguay Oriental (Concepción y Canindeyú) y en Bolivia. En todos los casos, fue encontrada en bosques más o menos abiertos lindantes a los ríos (Rio Paraguay, Paraná y sus tributarios). Debido a que se encontraron algunos ejemplares aislados intercalados en forestaciones de pino, se considera una especie pionera, ésto sustentado por sus frutos ornitocoros.

BIBLIOGRAFÍA

- Bacigalupo NM. 1993.** Rubiaceae. Pp. 375–437 in *Flora de la Provincia de Jujuy* vol. 13(9), ed. A.L. Cabrera. Buenos Aires: Colección Científica del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
- Bacigalupo NM, EL Cabral & CM Taylor. 2008.** Rubiaceae. In: Zuloaga F. O, Morrone O. & M. J. Belgrano (eds.), Catálogo de Plantas Vasculares de la República Argentina II. *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* 107(3): 2871–2920.
- Bernardi L. 1985.** Contribución a la dendrología paraguaya: Segunda parte. *Boissiera* 37: 7–294.
- Candolle AP. 1830.** *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis*, vol. IV. Paris: Treuttel and Würtz.
- Chodat RH. & E Hassler. 1904.** *Plantae hasslerianae* soit énumération des plantes récoltées au Paraguay par le Dr Emile Hassler de 1885-1902. *Bulletin de l'Herbier Boissier, sér. 2*, 4: 169–196.
- Delprete PG. 2010.** Rubiaceae. In: Rizzo J. (ed.), *Flora dos Estados Goiás e Tocantins* Vol. 40 (1–3). Goiania, Brasil.
- Delprete PG, LB Smith & RB Klein. 2005.** Rubiáceas. Vol. 2 – Gêneros de G-Z: 20. *Gardenia* até 46. *Tocoyena* (com observações ecológicas por Klein, R.; Reis, A. & Iza, O.). In: Reis A. (ed.). *Flora Ilustrada Catarinense*. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí 345–843.
- Erdtman C. 1966.** *Pollen morphology and plant taxonomy-Angiosperms (An introduction to palynology)*, revised edition. New York & London: *Hafner Publishing Co.*

- Fagerlind F. 1943.** Die sprossfolge in der Gattung *Randia* und ihre bedeutung für die revision der Gattung. *Arkiv för Botanik utgivet av Kungl Svenska Vetenskapsakademien* 30: 1–57.
- Gustafsson C. 1998.** The Neotropical *Rosenbergiodendron* (Rubiaceae, Gardenieae). *Brittonia* 50: 452–466.
- Gustafsson C. 2000.** Three new species of South American *Randia* (Gardenieae, Rubiaceae). *Novon* 10: 201–208.
- Gustafsson C & C Persson. 2002.** Phylogenetic relationships among species of the Neotropical genus *Randia* (Rubiaceae, Gardenieae) inferred from molecular and morphological data. *Taxon* 51: 661–674.
- Judkevich MD, Salas RM, Gonzalez AM. 2015.** Revisión de *Randia* (Rubiaceae) en Argentina, taxonomía y morfoanatomía. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 50 (4): 607–625.
- Lorence DH. 1986.** *Glossostipula* (Rubiaceae), a new genus from Mexico and Guatemala. *Candollea* 41(2): 453–461.
- McNeill J, FR Barrie, WR Buck, V Demoulin, W Greuter, DL Hawksworth, PS Herendeen, S Knapp, K Marhold, J Prado, WF Prud'Homme Van Reine, GF Smith, JH Wiersema & NJ Turland, (eds.). 2012.** *International Code of Nomenclature for algae, fungi and plants (Melbourne Code)*. International Association for Plant Taxonomy. <http://www.iapt-taxon.org/nomen/main.php> (acceso en 21-VIII-2015)
- Morrone JJ. 2014.** Biogeographical regionalisation of the Neotropical region. *Zootaxa* 3782(1): 1–110.
- Persson C. 1993.** Pollen morphology of the Gardenieae-Gardeniinae (Rubiaceae). *Nord. J. Bot.* 13(5): 561–582.
- Punt WP, P Hoen, S Blackmore & A Le Thomas. 2007.** Glossary of pollen spore terminology. *Review of Paleobotany and Palynology* 143: 1–81.
- Schumann K. 1891.** Rubiaceae. Pp. 1–156 in *Die natürlichen Pflanzenfamilien* vol. 4(4), eds. A. Engler, and Prantl, K. Leipzig: Engelmann.
- Serrano M & J Terán. 1998.** Identificación de especies vegetales en Chuquisaca. 129 pp. Sucre: PLAFOR, Intercooperación, Fundación Ceibo.
- Smith LB & RJ Downs. 1956.** Resumo preliminar das Rubiaceae de Santa Catarina. *Sellowia (Itajaí)* 7–8: 13–86.
- Taylor CM & DH Lorence. 1993.** On the status of *Randia armata* (Sw.) DC. (Rubiaceae: Gardenieae). *Taxon* 42(4): 865–867.

Thiers B. 2018. *Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff*. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium.
<http://sweetgum.nybg.org/science/ih> (acceso Oct, 2018).

DISCUSIONES Y CONCLUSIONES

GENERALES

En la presente Tesis Doctoral se llevaron a cabo estudios en especies arbustivo-arbóreas pertenecientes a cuatro géneros de la tribu Gardenieae de la familia Rubiaceae, que habitan en Argentina y en países limítrofes (Bolivia, Brasil y Paraguay).

La mayor parte de este plan de trabajo comprendió la realización de estudios morfo-anatómicos y embriológicos en cinco especies que fueron propuestas según la sexualidad: una especie hermafrodita: *Tocoyena formosa*, y cuatro especies dioicas: *Cordia concolor*, *Genipa americana*, *Randia calycina* y *Randia sp. nov.* En estas especies se describieron la organización y anatomía floral, la sexualidad de las flores, los procesos de esporogénesis y gametogénesis, además de la morfología y dispersión del polen.

Además, se realizó la descripción de la diferenciación del fruto de *Cordia concolor* para responder a la inquietud que se tenía sobre el origen de la masa gelatinosa en la que están sumergidas las semillas cuando el fruto está maduro.

Por otro lado, se realizó la revisión del género *Randia* para el Cono Sur de Sudamérica, con la finalidad de resolver los problemas taxonómicos asociados a este género en el área de estudio.

Con esta Tesis se realizaron aportes originales en especies de la tribu Gardenieae, abarcando tanto estudios anatómicos como taxonómicos, los cuales serán útiles para realizar futuros estudios comparativos en la tribu y en la familia.

A continuación se discuten los resultados relevantes y detallan las conclusiones derivadas del presente estudio.

SEXUALIDAD Y MORFO-ANATOMÍA FLORAL

De las cinco especies analizadas, solo *Tocoyena formosa* presenta flores perfectas con ambos verticilos sexuales completamente desarrollados. En base a los resultados obtenidos de los estudios de anatomía reproductiva, se determinó que las especies *C. concolor*, *G. americana* y *Randia spp.* presentan **dioecia críptica**, es decir que las flores son morfológicamente perfectas pero son funcionalmente imperfectas. Estas especies presentan dos tipos de flores, en los que solo un verticilo fértil está completamente desarrollado: en las flores funcionalmente pistiladas este verticilo corresponde al gineceo, mientras que en las flores funcionalmente estaminadas el verticilo corresponde al androceo. En ambas flores el verticilo opuesto es vestigial.

En trabajos taxonómicos previos a esta tesis, las especies de *Genipa* fueron tratadas por diferentes autores como *hermafroditas* (Steyermark 1974; Dwyer 1980; Burger & Taylor 1993; Andersson *et al.* 1993), para otros autores son *dioicas* con flores unisexuales (Robbrecht & Puff 1986; Zappi *et al.* 1995; Taylor 2001; Ruzza 2017), o *ginodioicas* o *ginomonoicas* (Steyermark & Persson 2004), e incluso como *polígamas* (Persson & Delprete 2017). Con el presente estudio se pudo determinar que si bien *Genipa americana* tiene flores morfológicamente similares (lo que puede llevar a confusiones observando solo material de herbario), es una especie dioica que presenta flores funcionalmente pistiladas y flores funcionalmente estaminadas en pies separados.

Ciertas características anatómicas como la presencia de drusas, la epidermis con paredes lignificadas en la base del tubo corolino y los haces vasculares colaterales en todas las piezas florales, son comunes a las cinco especies analizadas de *Gardenieae*. Sin embargo, la presencia de colénquima en el perianto es propia de *G. americana* y *T. formosa*, ambas especies presentan flores de mayor tamaño que las restantes.

Otra característica compartida entre las especies estudiadas fue la presencia de **nectarios epíginos**, que continúan siendo visitados por hormigas luego de la abscisión de la corola. Teniendo en cuenta las diferentes clasificaciones propuestas para nectarios en Angiospermas, en las especies analizadas de *Gardenieae* los nectarios pueden ser considerados como de tipo: reproductivos, estructurales y mesenquimáticos, siendo **nectarios florales** durante la etapa floral, con función **nupcial**. Además, tras la caída de la corola y durante la diferenciación del fruto se los puede considerar como **nectarios persistentes** (con secreción post-floral) y con función **extranupcial**.

Además, en el cáliz de *T. formosa* y de *C. concolor* se encontraron y describieron emergencias secretoras denominadas **coléteres**. En la primera especie corresponden al tipo estándar, el más común en la familia Rubiaceae, mientras que en la segunda son del tipo dendroide. En ambas especies, dichos coléteres son iguales a los hallados por otros autores en las estípulas. Esto sustenta en parte lo mencionado por Robbrecht (1998) y por Hallé (1967) para Rubiaceae, de que el tipo de coléteres encontrados en cáliz y estípulas están asociados. Sin embargo, esto no es una regla general, ya que estas emergencias se encontraron también en las estípulas tanto de *G. americana* (obs. pers.) como de las especies de *Randia* (Judkevich *et al.*, 2015), pero están ausentes en el cáliz. Con este trabajo se confirma la ausencia de coléteres en el cáliz de *Randia*, característica que, junto con otras, ha sido utilizada por Gustafsson (1998) para separar a este género de *Rosenbergiodendron*.

ESTUDIOS ANATÓMICOS Y EMBRIOLÓGICOS EN LOS VERTICILLOS FÉRTILES

Con los estudios anatómicos de androceo realizados en las cinco especies se pudo determinar que existen similitudes en la diferenciación de la antera y del polen entre la especie con flores perfectas y las especies con flores funcionalmente estaminadas (FFE). Además, en las flores funcionalmente pistiladas (FFP), se pudo detectar el momento en que se detiene la diferenciación del polen; en célula madre de las micrósporas en *R. sp. nov.*, en meiosis en *G. americana*, y en tétrades en *C. concolor* y *R. calycina*. Además se describieron cuáles son los principales cambios histológicos que acompañan esta detención de la diferenciación. Por otra parte se registró que en las FFP de *C. concolor*, *G. americana* y *R. calycina*, la presencia de endotecio con engrosamientos no asegura que ocurra la dehiscencia de las anteras.

De las especies analizadas en este trabajo, se describe por primera vez la presencia de tejido **placentoide** en las anteras de *T. formosa* y en especies de *Randia*, siendo los primeros registros de esta estructura para la familia Rubiaceae. En base a lo observado en las anteras de *T. formosa*, se describe un nuevo tipo de placentoide (con engrosamientos fibrosos similares a los del endotecio) y se propone una clasificación de este tejido teniendo en cuenta su histología. También, se registra por primera vez la presencia de **orbículas** en la cara interna de los lóculos de las anteras en una FFE de *Cordia concolor* y la presencia de **pollenkitt** en la superficie del polen de todas las especies aquí tratadas.

Además, se han encontrado dos tipos de unidades polínicas en las especies analizadas: 1) **mónades** en *C. concolor*, *G. americana* y *T. formosa*, y 2) **tétrades permanentes** en *Randia spp.* En *Randia*, la dispersión del polen en tétrades ha sido mencionada por varios autores (Fagerlind, 1948; Brenekamp, 1957; Hallé, 1967; Persson, 1993; Gustafsson & Persson, 2002; Judkevich *et al.*, 2015) y representa un carácter constante.

En cuanto al tipo de aberturas presentes en los granos de polen, los granos son 3-porados en *T. formosa* y *Randia spp.*, mientras que en *C. concolor* y *G. americana* los granos son 3-colporados. En Rubiaceae el tipo de apertura del grano de polen es un carácter de identificación y es usualmente útil para realizar inferencias filogenéticas (Dessein *et al.*, 2005). En *Cordia* el polen 3-colporado es una característica del género que lo distingue del género hermano *Alibertia* con granos porados (Persson & Delprete, 2010).

Los estudios anatómicos de gineceo realizados en las cinco especies analizadas permitieron discernir varias diferencias estructurales en las flores FFE y FFP. Tanto las flores perfectas como las FFP presentan **estilo macizo**, con tejido de transmisión que se continúa con la epidermis de la superficie interna de las ramas estigmáticas, la que representa la superficie receptiva. Dicho tejido está reducido en las FFE. En el estigma de las flores perfectas de *T. formosa* y en las FFE de las especies dioicas, la superficie externa participa en la presentación secundaria del polen. No ocurre lo mismo en las FFP por la ausencia de polen en las anteras.

En el ovario de las FP y las FFP, se distinguieron dos tipos de placentas teniendo en cuenta el grado de diferenciación de las mismas. En *G. americana* la placentación es **axilar típica**, mientras que en el resto de las especies es **axilar difusa** y recubre completamente a los óvulos. A diferencia de estas flores, en las FFE hay una gran reducción de los tejidos placentarios, que varía desde la ausencia total de placenta hasta la presencia de placentas de diferentes tamaños, con o sin rudimentos de óvulos.

En las FP y FFP los **óvulos son hemianátropos, tenuinucelados y unitégmicos**. El único tegumento es masivo. En base al número de tegumentos, el número de células arquesporales y la forma de la epidermis nucelar, Fagerlind (1937) propuso en Rubiaceae una clasificación de tipos de óvulos y su tendencia evolutiva. Estudios posteriores de Galati, (1991), De Toni & Mariath, (2008, 2010), y Figueredo *et al.* (2013) ampliaron el número de tipos de óvulos en la familia a once. Las características encontradas en los óvulos de las *Gardenias* aquí analizadas no coincidieron con los tipos de óvulos propuestos

para la familia (con una sola célula arquesporrial y sin rudimentos del segundo tegumento), por lo que se propone un nuevo tipo de óvulo, denominado tipo *Gardenia*.

Además, se determinó que los procesos de megasporogénesis y megagametogénesis se desarrollan normalmente únicamente en las FP y en las FFP. En éstas, el saco embrionario corresponde al tipo *Polygonum*.

Mayer & Charlesworth (1991) recopilando observaciones de otros autores, han planteado dos puntos de vista sobre la retención de órganos fértiles en la dioecia críptica (aquella que presenta flores morfológicamente perfectas pero funcionalmente unisexuales):

- 1) la dioecia críptica se ha originado a partir del estado hermafrodita y las especies con esta condición se encuentran en un proceso de transición hacia la dioecia típica (flores morfológica y funcionalmente unisexuales separadas en diferentes plantas);
- 2) los órganos no funcionales participarían en la reproducción a través de la atracción de polinizadores.

Considerando que en esta tesis se realizaron estudios anatómicos y embriológicos en cinco especies de Gardenieae; en relación al primer punto de vista, se ha observado que hay similitud en la diferenciación de la antera y del polen entre la especie con flores perfectas y las FFE de las especies dioicas. De este modo se está de acuerdo con la primera aseveración de Mayer & Charlesworth (1991), y las flores FFE tienen su origen en un estado hermafrodita. Además, la detención de la diferenciación del polen en las FFP en distintos estadios (dependiendo de la especie), podría interpretarse como diferentes grados de transición a una dioecia morfológica (TÍPICA). Otro sustento a este punto de vista es que si bien los procesos de megasporogénesis y megagametogénesis solo ocurren en las FP y en las FFP, se pueden encontrar rudimentos de placenta o de óvulo, dependiendo del caso, en las especies con FFE.

Como en esta tesis no se realizaron observaciones de polinizadores, no se puede aseverar ni rechazar la segunda hipótesis de Mayer & Charlesworth (1991). Sin embargo, en las FFE el estilo y las ramas estigmáticas funcionan como presentadores de polen, por lo que participarían en parte en la relación flor/polinizadores.

ESTRATEGIAS REPRODUCTIVAS

En las especies analizadas, con las observaciones de campo y de laboratorio se pudieron determinar cuatro estrategias diferentes que aseguran la fecundación cruzada.

En cada especie ocurre más de un mecanismo de manera simultánea. Se describieron: la **unisexualidad de las flores**, la **presentación secundaria del polen**, la **protandria** y la **propagación vegetativa** a través de rizomas. Además, en este trabajo, los primeros mecanismos fueron explicados no solo con observaciones de campo sino también desde un punto de vista anatómico.

La presentación secundaria del polen ocurre tanto en *T. formosa* con flores perfectas como en las FFE de las restantes especies dioicas. Este mecanismo es común en la tribu *Gardenieae* y en la familia (Hallé, 1967; Robbrecht, 1988, Howell, 1993; Yeo, 1993; Puff *et al.*, 1996). Tal es su importancia, que Mouly *et al.* (2014) al proponer una nueva circunscripción para *Gardenieae* en base a caracteres moleculares y morfológicos, reconocen el grupo *Alibertia* a nivel tribal como *Cordiereae*, y mencionan como una de las características que definen a esta tribu la ausencia de presentación secundaria del polen. Sin embargo, las observaciones realizadas en *C. concolor* (incluida desde 2014 en la tribu *Cordiereae*), demostraron que esta especie sí presenta dicha estrategia de reproducción. Esta discrepancia podría deberse a que muchas veces las observaciones se realizan únicamente en material de herbario, esto denota la importancia de realizar observaciones también en material fresco.

La presentación secundaria del polen en *T. formosa* forma parte de un mecanismo de reproducción más complejo, ya que en esta especie además se combina con la protandria. Esta combinación de estrategias es común en otras especies de *Rubiaceae* pertenecientes a la tribu *Pavetteae* (De Block & Igersheim, 2001).

Por otro lado, la reproducción vegetativa a través de rizomas se observó en *T. formosa* y en ambas especies de *Randia*. Dicho mecanismo se ha descrito en otras *Rubiáceas* arbóreas como *Warszewiczia uxpanapensis* (Rondeletieae, Cambronero & Stéfano, 2006) y *Larsenaikia spp.* (*Gardenieae*, Tirvengadum, 1993). En *C. concolor* y *G. americana* son necesarias más observaciones para confirmar si este mecanismo también participa en la reproducción de las plantas.

ANATOMÍA Y ONTOGENIA EN FRUTOS DE *C. CONCOLOR*

Con los estudios de anatomía realizados en el fruto de *C. concolor*, fue posible dilucidar a qué tejido corresponde la masa gelatinosa en la que se encuentran embebidas las semillas en el fruto maduro. Se determinó así que la “pulpa” corresponde principalmente a la diferenciación post-fecundación del mesocarpo y endocarpo, siendo mínima la participación de las placentas.

En los frutos de *T. formosa*, *G. americana* y *Randia spp.* deberían realizarse estudios similares para determinar el origen de la pulpa y evaluar si es un carácter constante en la tribu *Gardenieae*.

ESTUDIOS TAXONÓMICOS DE *RANDIA* EN EL CONO SUR DE SUDAMÉRICA

Un problema relacionado al género *Randia* en el Cono Sur de Sudamérica, era que frecuentemente el nombre más utilizado para identificar especímenes del género era *R. armata*. Luego de examinar el lectotipo de *R. armata* y materiales adicionales de herbarios se encontraron características suficientes para excluir a esta especie del área de estudio. Su presencia en colecciones en nuestra región resulta improbable además debido a que *R. armata* es una especie amazónica que habita N Brasil, Venezuela, Colombia y las Guayanas.

Los caracteres de mayor utilidad encontrados para diferenciar a las especies de *Randia* que habitan en el Cono Sur de Sudamérica fueron: el porte, el indumento de los órganos vegetativos y reproductivos, el tamaño de las flores, la proporción longitud/ancho de la corola, la forma del ápice del botón pre-antesis, la forma de los lóbulos del cáliz, el tipo de exina de los granos de polen, la forma y tamaño de los frutos.

Con los aportes generados en este trabajo, actualmente en el Cono Sur de Sudamérica se reconoce que el género *Randia* presenta cinco especies: *R. brevituba*, *R. calycina*, *R. ferox*, *R. micracantha* y *R. sp. nov.* Dos de ellas son especies nuevas: *R. brevituba*, distribuida en Argentina (restringida a la provincia de Misiones) y Paraguay Oriental, y *Randia sp. nov.*, la de mayor distribución en el NEA, Paraguay Oriental y Mato Grosso do Sul, Brasil. Por otro lado *R. calycina*, está distribuida en el Este de Formosa y

Nordeste de Chaco, Paraguay y Brasil; *R. ferox* se distribuye en el NEA y Sur de Brasil y *R. micracantha* en el NOA y Bolivia. Los resultados incluyen una clave taxonómica para identificar a las especies y las correspondientes ilustraciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Andersson L. 1993.** Rubiaceae – Introduction & 162 (22). Rubiaceae – Anthospermeae. *Fl Ecuador* 47: 1–38.
- Bremekamp CEB. 1957.** On the position of *Platycarpum* Humb. & Bonpl., *Henriquezia* Spruce ex Bth. and *Gleasonia* Standl. *Acta Bot. Neerl.* 6: 351–357.
- Burger WC & CM Taylor. 1993.** Rubiaceae. *Fieldiana Bo., ns.* 33: 1–333.
- Cambronero LB & JF Stéfano. 2006.** Posible influencia de los rametes en la estructura poblacional y distribución del árbol gigante *Warszewiczia uxpanapensis*, Cordillera de Tilarán, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 54(4): 1179–1188.
- De Block P & A Igershein. 2001.** Stigma of the African Genera *Rutidea* and *Nichallea* (Rubiaceae-Ixoroideae-Pavetteae): highly modified receptive surfaces. *Int. J. Pl. Sc.* 162: 567–578.
- De Toni KLG & JEA Mariath. 2008.** Ovule ontogeny in Rubiaceae (Juss.): *Chomelia obtuse* (Cinchonoideae–Guettardeae) and *Ixora coccinea* (Ixoroideae–Ixoreae). *Pl. Syst. Evol.* 272: 39–48.
- De Toni KLG & JEA Mariath. 2010.** Ovule ontogeny of *Relbunium* species in the evolutionary context of Rubiaceae. *Austral. J. Bot.* 58: 70–79.
- Dessein S, Ochoterena H, De Block P, Lens F, Robbrecht E, Schols P, Smets E, Vinckier S, Huysmans S. 2005.** Palynological characters and their phylogenetic signal in Rubiaceae. *Bot. Rev.* 71(3): 354–414.
- Dwyer JD. 1980.** Flora of Panama, part IX. Family 179. Rubiaceae - Part 2. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 67(2): 257–522.
- Fagerlind F. 1937.** Embryologische, zytologische und bestäubungsexperimentelle studien in der familie Rubiaceae nebst Bemerkungen über einige polyploiditätsprobleme. *Acta Horti Berg.* 2: 196–470.
- Fagerlind F. 1948.** *Rosenbergiodendron gen. nov.*, eine polymorphe Rubiaceen-Gattung mit gewöhnlichem Vorkommen von Mikrosporogenesestörungen. *Svensk Bot. Tidskr.* 42: 143–152.

- Figueiredo RC, Masullo FA, Vieira RC & KLG De Toni. 2013.** Development of carpels and ovules in *Psychotria carthagenensis* (Psychotrieae) and *Rudgea macrophylla* (Palicoureeae) (Rubioidae, Rubiaceae). *S. African J. Bot.* 84: 110–114
- Galati, BG. 1991.** Estudios embriológicos en la tribu Spermacoaceae (Rubiaceae). Parte I: Anatomía floral. Microsporogénesis. Megasporogénesis. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 27(1–2): 7–20.
- Gustafsson C. 1998.** The Neotropical *Rosenbergiodendron* (Rubiaceae, Gardenieae). *Brittonia* 50(4): 452–466.
- Gustafsson C & C Persson. 2002.** Phylogenetic relationships among species of the Neotropical genus *Randia* (Rubiaceae, Gardenieae) inferred from molecular and morphological data. *Taxon* 51: 661–674.
- Hallé F. 1967.** Étude biologique et morphologique de la tribu des Gardeniées (Rubiaceae). *Mém. O.R.S.T.O.M.* 22: 146.
- Howell GJ, AT Slater & RB Knox. 1993.** Secondary pollen presentation in Angiosperms and its Biological Significance. *Aust. J. Bot.* 41: 417–438.
- Judkevich MD, Salas RM, Gonzalez AM. 2015.** Revisión de *Randia* (Rubiaceae) en Argentina, taxonomía y morfoanatomía. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 50 (4): 607–625.
- Mayer SS & D Charlesworth. 1991.** Cryptic dioecy in flowering plants. *Trends Ecol. Evol.* 6: 320–325.
- Mouly A, Kainulainen K, Persson C, Davis AP, Wong KM, Razafimandimbison SG & B Bremer. 2014.** Phylogenetic structure and clade circumscriptions in the Gardenieae complex (Rubiaceae). *Taxon* 63 (4): 801–818.
- Persson C. 1993.** Pollen morphology of the Gardenieae-Gardeniinae (Rubiaceae). *Nord. J. Bot.* 13(5): 561–582.
- Persson C & PG Delprete. 2010.** *Cordia longicaudata* sp. nov. and *Duroia valesca* sp. nov. of the *Alibertia* group (Gardenieae-Rubiaceae). *Nordic J. Bot.* 28: 523–527.
- Persson C & PG Delprete. 2017.** The *Alibertia* Group (Gardenieae-Rubiaceae) – Part 1. *Flora Neotropica monograph*, 119: 1–241.
- Puff C, E Robbrecht, R Buchner & P De Block. 1996.** A survey of secondary pollen presentation in the Rubiaceae. *Opera Bot. Belg.* 7: 369–402.
- Robbrecht E. 1988.** Tropical woody Rubiaceae. *Opera Bot. Belg.* 1: 1–271.
- Robbrecht E & C Puff. 1986.** A survey of the Gardenieae and related tribes (Rubiaceae). *Bot. Jahrb. Syst.* 108: 63–137.

- Ruzza DAC. 2017.** Etnobotânica, biologia reprodutiva e diversidade genética em *Genipa americana* L. (Rubiaceae) visando a conservação e manejo sustentável da espécie. PhD thesis, Universidade do Estado de Mato Grosso, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Alta Floresta-MT, Brasil.
- Steyermark JA. 1974.** Rubiaceae. In: Lesser T. (ed.). *Fl Venezuela* 9(2): 603–1101.
- Steyermark JA & C Persson. 2004.** *Genipa*. In: JA Steyermark, PE Berry, K Yatskievich and BK Holst (eds.). Flora of the Venezuelan Guayana, Vol. 8: 605-608. Poaceae-Rubiaceae. *Miss. Bot. Garden*. Press, Saint Louis.
- Taylor CM. 2001.** Rubiaceae. In: Stevens WD, Ulloa C, Pool A & Montiel OM (eds.). Flora de Nicaragua. Monogr Syst Bot, *Miss. Bot. Gard.* 85(3): 2206–2284.
- Tirvengadam DD. 1993.** *Larsenaikia*, a new genus of the Rubiaceae from Australia. *Nord. J. Bot.* 13: 175-184.
- Yeo P. 1993.** Secondary pollen presentation: form, function and evolution. *Pl. Syst. Evol.*, Suppl. 6: 1–268.
- Zappi DC, J Semir & NI Pierozzi. 1995.** *Genipa infundibuliformis* sp. nov. and notes on *Genipa americana* (Rubiaceae). *Kew Bulletin* 50:761–771.