

Anatomía floral comparada de once especies sudamericanas de *Ilex* L. (*Aquifoliaceae*) relacionadas con la yerba mate

Gustavo C. Giberti^{1,*} y Alberto A. Gurni²

¹ Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (Conicet) en IQUIMEFA, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. Junín 956 (1113). Buenos Aires, República Argentina. Correo electrónico: giberti@uolsinectis.com.ar.

² Profesor Titular de la Cátedra de Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. Junín 956 (1113) Buenos Aires, República Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia.

Resumen

Se estudia comparativamente la anatomía floral de once especies sudamericanas de *Ilex* L. que están relacionadas con el cultivo de la yerba mate y sus adulterantes y sustitutos: *Ilex argentina* Lillo, *I. brasiliensis* (Sprengel) Loes., *I. brevicuspis* Reissek, *I. chamaedryfolia* Reissek, *I. dumosa* Reissek, *I. integerrima* (Vell.) Reissek, *I. microdonta* Reissek, *I. paraguariensis* A. St. Hil., *I. pseudobuxus* Reissek, *I. taubertiana* Loes. e *I. theezans* C. Martius ex Reissek. Mediante un estudio ilustrado comparativo de secciones longitudinales y transversales de botones florales maduros de estas especies, ha sido posible esbozar un patrón histológico común de sus flores y confirmar su condición gamopétala. Asimismo, se informan sus pequeñas diferencias cuali y cuantitativas. Los datos que se presentan sobre la estructura interna de las flores, nueve de las once especies estudiadas, son originales.

Comparative flower anatomy of eleven South American *Ilex* L. (*Aquifoliaceae*) species related to yerba mate

Summary

Flower anatomy of the following eleven South American *Ilex* species, which are related to yerba mate and its substitutes/adulterations, was compared: *Ilex argentina* Lillo, *I. brasiliensis* (Sprengel) Loes., *I. brevicuspis* Reissek, *I. chamaedryfolia* Reissek, *I. dumosa* Reissek, *I. integerrima* (Vell.) Reissek, *I. microdonta* Reissek, *I. paraguariensis* A. St. Hil., *I. pseudobuxus* Reissek, *I. taubertiana* Loes. and *I. theezans* C. Martius ex Reissek. Through an illustrated study of transversal and longitudinal sections from the mature floral buds of these species, a common histological pattern for pistillate and staminate flowers was confirmed, as well as their gamopetalous condition. Additionally, minor quantitative and qualitative specific differences among these species are reported. Novel data for nine of these taxa are presented.

Palabras clave: Anatomía floral - *Ilex* - América del Sur - yerba mate.

Key words: Flower anatomy - *Ilex* - South America - yerba mate.

Introducción

Generalidades

El género *Ilex* L. (*Aquifoliaceae*)—bastante difundido en el Neotrópico—no es demasiado abundante en representantes en el Cono Sur de Sudamérica. A pesar de que la especie de mayor importancia económica, *I. paraguariensis* A. St. Hil., la “yerba mate”, es nativa de la región, y que se cultiva para obtener las materias primas utilizadas en una infusión estimulante.

Coexisten con la especie de cultivo cierto número de especies cogenéricas, de las cuales la mayoría son o han sido mencionadas como sustitutos o adulterantes (Giberti, 1989). Históricamente, las sustituciones de la yerba mate se producen en tiempos de escasez de materias primas; es decir, que ocurre en momentos en que el abastecimiento de los secaderos y los molinos yerbateros está amenazado por la escasez de oferta de yerba para elaborar. Esta situación determina no solamente la aparición de algunos sustitutos y adulterantes, muchos de ellos cogenéricos, sino también la industrialización de ramas cosechadas en períodos del año que no son precisamente convenientes y, que por diversos motivos pueden incluir materiales ya florecidos o fructificados.

Es decir, que a la micrografía de los órganos vegetativos—partes utilizadas por la industria—de la yerba mate y sus sofisticaciones, debe agregarse la de órganos reproductivos, aunque no se sabe demasiado acerca de la organografía floral en estas especies.

En términos generales, la biología de las especies de *Ilex* de Sudamérica está relativamente poco estudiada, a pesar de la publicación de varios trabajos en los últimos diez años (Giberti, 2001; Gottlieb y col., 2005).

Un registro de los datos histológicos de las flores de este género revela sorprendentemente una exigua cantidad de entidades estudiadas: en el conjunto de la bibliografía exo y endomorfológica de las Aquifoliáceas, las referencias a la anatomía floral son relativamente escasas (Giberti, 2001). Solamente el trabajo de Schoenberg y Dinoutti (1989) es explícito con referencias a la totalidad de los ciclos florales, tanto para las flores pistiladas como para las estaminadas de *I. paraguariensis*.

Si bien es ampliamente conocida la relevancia que la morfología de los órganos reproductivos tie-

ne en la sistemática vegetal, en el caso específico de *Ilex*, como ya se expresó, la mayoría de los trabajos destaca la importancia sistemática de la arquitectura de las inflorescencias (Loesener, 1901, 1908, 1942; Loizeau y Spichiger, 1992; Coelho y Mariath, 1996), en detrimento de las consecuencias taxonómicas de la exo y la endomorfolología floral; quizás se deba a que el número de especies cuya anatomía floral ha sido tratada es muy escaso en relación con las más de 400 especies del género conocidas en el planeta.

Especies con datos de anatomía floral recopiladas

I. amara (Vell. Conc.) Loes.

I. aquifolium L.

I. cornuta Lindl. & Paxt.

I. crenata C. R. Thunb. ex A. Murray

I. dahoon Walter

I. decidua Walter

I. montana Torrey & A. Gray

I. nitida (Vahl.) Maximowicz

I. opaca Ait.

I. paraguariensis A. St. Hil.

I. verticillata (L.) A. Gray

I. vismiifolia Reissek

I. vomitoria Ait.

Se desprende de esta lista de especies que, con excepción de *I. amara*, *I. paraguariensis* e *I. vismiifolia*, existen pocos estudios publicados sobre la anatomía floral de las especies sudamericanas, y que tampoco hay tratamientos comparativos para ellas. Esto es crítico, pues Sudamérica, que tiene un total de especies cuyas estimaciones oscilan en alrededor de 220 (Giberti, 1995), constituye un importante centro de diversificación de esta familia y, para toda América, se estiman cerca de 300 (Loizeau, 1994).

En consecuencia, se presentan aquí características de la estructura interna de flores estaminadas y pistiladas de algunas especies de *Ilex*, de la parte austral de Sudamérica. Se carecía totalmente de referencias sobre la anatomía floral de ciertas especies: (*I. argentina* Lillo, *I. brasiliensis* (Sprengel) Loes., *I. chamaedryfolia* Reissek, *I. dumosa* Reissek, *I. integerrima* (Vell.) Reissek, *I. microdonta* Reissek, *I. pseudobuxus* Reissek, *I. taubertiana* Loes. e *I. theezans* C. Martius ex Reissek). Asimismo, se aportan informaciones de la histología floral de otras especies ya relevadas en ese aspecto, como *I. paraguariensis* e *I. brevicuspis* Reissek.

Figura 1.- Corolas de flores de yerba mate (*Ilex paraguariensis*) dispersas por el suelo de una plantación luego de la antesis



Como se sabe, el botánico que busca a campo determinados grupos de especies latifoliadas arbóreas con flores poco vistosas, puede experimentar dificultades en ambientes de pluvisilvas tropicales o subtropicales para, desde el suelo, visualizarlas en la copa de los árboles. Las Aquifoliaceae sudamericanas no escapan a esta situación, pues sus pequeñas flores blanquecino-verdosas, agrupadas en inflorescencias poco visibles, no se detectan bien entre el alto canopeo. Sin embargo, en época de floración, una peculiaridad de estas flores ayuda al hallazgo e identificación a campo de los árboles del género *Ilex*: las corolas completas y el androceo adnato en estas flores se desprenden y caen después de la antesis. Por lo tanto, el hallazgo de las corolas desprendidas en el suelo (Figura 1) es un buen indicador de la presencia de individuos de *Ilex* en las cercanías.

Esta evidencia empírica, unida al hecho contradictorio de que en algunos tratamientos sistemáticos de principios del siglo XX (Engler y Diels, 1936), sumado a la evidencia contemporánea de ciertos estudios florísticos (Loizeau, 1994) que mencionan para el género la condición dialipétala, sugieren, entre otros motivos, acometer el estudio de la anatomía floral de algunas especies de la zona austral de Sudamérica de *Ilex* L.

Ciertamente que la anatomía floral en una familia de posición sistemática discutida hasta la actualidad, como es el caso de las Aquifoliaceae, así como su característica dioecia y la recopilación de antecedentes relacionados con la determinación del sexo, son factores importantes para realizar este estudio.

No se consideraron en este trabajo las implicancias de la intrincada y tan discutible clasificación infragenérica del género *Ilex* de Loesener (Loesener, 1901, 1908, 1942).

Nociones sobre la expresión morfológica de la sexualidad y exomorfología en Ilex

Las especies pertenecientes a *Ilex* son dioicas; es decir, presentan flores unisexuales en individuos separados (Obeso y col., 1998). Así, tanto las flores pistiladas (femeninas), como las estaminadas (masculinas) presentan rudimentos abortados de órganos reproductivos del género opuesto, denominados, respectivamente, estaminodios (estambres estériles) y pistilodios (gineceos no funcionales).

Ilex es un taxón subdioico (Bawa, 1980); sin embargo, la bibliografía señala la existencia de especies polígamo-dioicas en el género, es decir la presencia de plantas estaminadas o pistiladas que asimismo exhibirían algunas flores perfectas o hermafroditas (Peterken y Lloyd, 1967). Pero, la ocurrencia de plantas de ese tipo parece ser excepcional en la naturaleza. Hibberd (1877) aportó descripciones poco fidedignas de la ocurrencia de este fenómeno y Loesener (1942), trató el tema para la especie europea *I. aquifolium* L.

Como se expresó, la existencia de órganos reproductivos rudimentarios estériles (estaminodios en flores pistiladas o pistilodios en flores estaminadas), suele ser la causa más común de interpretaciones erróneas sobre su supuesto carácter hermafrodita (Loizeau, 1994). Por otro lado, en *I. paraguariensis* no se ha probado la existencia de cromosomas sexuales (Barral y col., 1995), aun cuando se ha detectado (con bajas frecuencias: 5%) un bivalente fuera de placa, que migra anticipadamente (Niklas, 1987). Este migrante fue interpretado como heteromórfico y se le ha atribuido la condición de cromosoma sexual (Andrés y Saura, 1945).

Asimismo, si se considera que la dioecia es un carácter derivado y no ancestral para las Aquifoliaceae, y como la expresión del sexo puede llegar a modificarse ante variaciones en las condiciones ambientales —inclusivo las inducidas artificialmente (Heslop-Harrison, 1956; Bawa, 1980; Foltan y Lüdders, 1994)— en el caso especial de *Ilex*, las térmicas, se constata la inducción de trioecia por altas temperaturas (Prat Kricun, comunicación personal).

En estado silvestre, la existencia de individuos estaminados con escasos pistilodios transformados

en frutos se verifica muy raras veces, como en *I. affinis* Gardner (Giberti, 1994a), lo que parece ser un fenómeno teratológico. El control genético de estrategias de expresión sexual en vegetales, como dioecia, trioecia, entre otros, no es un tema que haya sido suficientemente estudiado (Dudley y col., 2001); las Aquifoliáceas son un claro ejemplo de esa carencia de datos precisos.

Descripción exomorfológica de la flor

En todo el género *Ilex* las flores son unisexuales, actinomorfas, hipóginas, 4- a polímeras, simpétalas, con estambres libres, sincárpicas, y predominantemente tetrámeras. En algunas especies, preferentemente en las de climas tropicales y subtropicales, el número de piezas que integran cada ciclo floral es generalmente mayor que 4, con frecuencia, 5, 6 ó 7, fenómeno más común en las flores terminales que en las laterales de las inflorescencias.

En casi todos los representantes de la familia, los sépalos están soldados. El cáliz, formado por sépalos glabros o pubescentes, de margen entero o ciliado, persiste en el fruto maduro. La corola está integrada por pétalos casi siempre de prefloración imbricada, cohesionados (Raven y Weyers, 2001), y generalmente la soldadura de las piezas de este verticilo entre sí se produce en sus bases (Loizeau, 1994) y es, como se dijo, caduca, junto con el androceo después de la antesis (Figura 2). No obstante, los limbos de los pétalos a veces están bien separados, razón por la cual en el sistema Engler-Diels (Engler y Diels, 1936) la familia fue considerada entre las Arquiclamídeas o Dialipétalas.

El androceo de las flores estaminadas, compuesto por un número pequeño de estambres alternipétalos, está adherido –adnato– (Raven and Weyers, 2001) a la corola por las bases de los filamentos. Las anteras son basifijas, introrsas, de dehiscencia longitudinal. Los filamentos son glabros, de longitud variable según las especies, y así se determina si los estambres maduros están exertos o insertos en la flor.

El gineceo fértil de las flores pistiladas, sésil, está conformado por un número variable de carpelos totalmente soldados. Según las especies, el estigma de la flor pistilada, de tipo húmedo no papiloso (Heslop-Harrison y Shivanna, 1977), discoideo, mamiforme (Figura 3) o capitado (Hu, 1949), puede ser sésil o subsésil, y solamente se advierte en la última condición un brevísimo estilo (como sucede en *I. dumosa* var. *guaranina* cfr. Giberti, 1979).

El ovario tiene forma ovoidea a subesférica. El número de lóculos que se forman en el ovario (según las especies, desde 4 a excepcionalmente 24), se corresponde con el número de carpelos. Dentro de los lóculos existe por lo general un solo óvulo péndulo, apótropo (anátrópo con rafe orientado hacia el interior del lóculo y micrópila hacia arriba) desarrollado, en placentación axilar. Los óvulos son unitegmentados (Shamrov, 2000; Albach y col., 2001), uniseminados, endospermados y presentan, en algunas especies, una conspicua protuberancia funicular, que fue interpretada por Loesener (1919) como un arilo; por Herr (1959), como rudimentos de un segundo óvulo locular, y por Schoenberg y Dinoutti (1989) como un obturador. El polen es tricolporado, suboblato, de subprolado a prolado (Anzotegui y Garralla, 1986).

Las flores son pequeñas: los sépalos miden aproximadamente 1mm por 1 mm, los pétalos oscilan entre 3 y 10 mm de largo, el gineceo no llega a los 2 mm de altura y los estambres apenas lo sobrepasan. Los pedicelos miden aproximadamente 5 mm, por lo general presentan dos ferofilos (bractéolas) y con frecuencia son esparcidamente pubescentes.

En las especies sudamericanas, en general las descripciones exomorfológicas de flores pistiladas y estaminadas están poco detalladas (Clos y Bellati, 1937). Se las puede encontrar en algunos trabajos aislados (Shemluck, 1979) y en tratamientos florísticos regionales (Edwin y Reitz, 1967; Giberti, 1979, 1994a, 1994 b). Para algunas especies estas publicaciones a veces carecen de los datos descriptivos de alguno de ambos sexos, debido a la carencia de buenos materiales de herbario correspondientes.

Por otro lado, se conocen datos palinológicos de varias especies actuales sudamericanas como *I. brasiliensis* (Sprengel) Loes., *I. glaucophylla* J.A. Steyermark, *I. guianensis* (Aublet) O. Kuntze, *I. jenmanii* Loes., *I. petiolaris* Benth., *I. retusa* Klotzsch, *I. teratopsis* Loes., *I. theezans* C. Martius ex Reissek (Lobreau-Callen, 1975); *I. paraguariensis* A. St. Hil. (Martin, 1977), entre otras y, además, de cierto número de especies fósiles (Anzotegui y Garralla, 1986).

Materiales y métodos

Material examinado histológicamente

Todas las muestras estudiadas en este trabajo provienen de fijaciones hechas en formol aceto

alcohólico (FAA) a partir de ejemplares vivos; solamente el material correspondiente a *I. brasiliensis* proviene de herbario. Se citan e ilustran los ejemplares con preparaciones microscópicas exitosas, ya que en los casos ensayados sobre material de herbario rehidratado, los preparados defectuosos impidieron su estudio.

Debe tenerse en cuenta también que para algunas de las especies estudiadas no fue posible examinar equitativamente ambos sexos o etapas ontogénicas estrictamente comparables debido a que no se dispuso de botones florales en cantidad suficiente.

Las estructuras florales solamente pueden ser bien estudiadas histológicamente cuando las técnicas de fijación son adecuadas y oportunas. Además, con frecuencia la interpretación de la anatomía más precisa requiere estudiar toda la ontogenia del órgano. Inclusive con muestras preparadas *ad hoc* para histología, algunas características embriológicas son extremadamente exigentes en cuanto a técnicas de fijación y escapan a la metodología convencional, más allá de requerir múltiples oportunidades de muestreo a lo largo del desarrollo de la flor, que no se han podido satisfacer plenamente en este estudio, pues requerirían una atención permanente junto al árbol. A todas estas consideraciones se suma el problema de una ontogenia asincrónica, por lo cual tampoco se encararon particularidades embriológicas de las flores estudiadas.

Los números de las muestras estudiadas anatómicamente se detallan en el siguiente párrafo. La muestra del ejemplar de *I. brasiliensis* fue hervida en agua antes de su fijación en FAA, como el resto de los materiales.

- *I. argentina*: ARGENTINA. Prov. Tucumán: Dpto. Yerba Buena, Cumbres de San Javier, ruta provincial 338, aprox. 4 km al SO de Anta Muerta, X-1992, Giberti 383 (BAF); *ibid.* ruta prov. 338, aprox. 3,9 km al SO de Anta Muerta, X-1992, Giberti 384 (BAF). Dpto. Monteros, Quebrada de los Sosas, km 29, X-1992, Giberti 386 (BAF).

- *I. brasiliensis*: PARAGUAY. Amambay; Capitán Bado, Sierra de Amambay, barranca de arroyo, IX-1921, Rojas 3926 (BAF).

- *I. brevicuspis*: ARGENTINA. Prov. Misiones. Dpto. San Pedro; Ruta nacional 14 en dirección NE, aprox. 2 km después del cartel de Policía de Tobuna, a la vera del camino; XI-1986; Giberti y Daviña 204 (BACP). BRASIL. Est. Parana. Mun. Guará; Ruta BR 277, Floresta de Guará; XI-1990, Giberti y otros

313 (BAF).

- *I. chamaedryfolia*: BRASIL. Est. Parana. Mun. Quatro Barras; Parque Marumbi, a la vera de Estrada da Graciosa, cima del Morro Sete; XI-1989; Giberti y otros 271 (BAF).

- *I. dumosa*: ARGENTINA. Prov. Misiones: Dpto. Oberá; Ruta 14, en chacra propiedad Kenski a la vera del camino; XI-1988; Giberti y Fontana 222, 223 (BAF). BRASIL. Est. Santa Catarina. Mun. Canoinhas; Reserva IBDF Três Barras; XI-1988; Giberti y otros 237, 238 (BAF).

- *I. integerrima*: BRASIL. Est. Parana. Mun. Guará; Ruta BR 277, Floresta de Guará; XI-1990; Giberti y otros 315 (BAF). Camino de Tijucas do Sul a Agudos do Sul, monte natural raleado a ambos lados de la ruta; XI-1989; Giberti y otros 277 (BAF).

- *I. microdonta*: BRASIL. Est. Parana. Mun. Quatro Barras; Parque Marumbi, a la vera de Estrada da Graciosa, cima del Morro Sete; XI-1989; Giberti y otros 270 (BAF). Est. Rio Grande do Sul. Mun. Cambará, Faxinal do Itambezinho, 10 km Aparados da Serra, X-1991, Giberti y otros 364 (BAF).

- *I. paraguariensis*: BRASIL. Est. Rio Grande do Sul. Mun. Campo Novo; en fazenda con erval viejo; X-1992; Giberti y otros 395 (BAF).

- *I. pseudobuxus*: BRASIL. Est. Rio Grande do Sul. Torres a aproximadamente 4 km al N, en camino hacia los médanos desde la ruta costera, en bosquecillo de restinga, aproximadamente 29° 20' S, 49° 43' O; X-1991; Giberti y otros 369 (BAF).

- *I. taubertiana*: BRASIL. Est. Parana. Mun. Quatro Barras; Parque Marumbi, en ladera del Morro Sete, a la vera de Estrada da Graciosa; XI-1989; Giberti y otros 267 (BAF). Est. Rio Grande do Sul. São Francisco de Paula, II-1992, Prat Kricun y otros 233 - col. INTA 124- (BAF).

- *I. theezans*: BRASIL. Est. Santa Catarina. Mun. Canoinhas; 32 km al O de Canoinhas, al borde rodovía BR 280; XI-1988; Giberti y otros 235 (BAF). Est. Rio Grande do Sul. Mun. Itapuca; en bosquecillo nativo a la vera de arroyo en fazenda del Sr. Gaspar; X-1992; Giberti y otros 415 (BAF).

Técnicas anatómicas

Para su estudio anatómico, inflorescencias estaminadas y pistiladas de ambas especies se fijaron a campo en FAA durante 48 horas por lo menos, modificación de la técnica de Johansen (1940).

Con el único objetivo de establecer comparaciones entre las especies estudiadas, se seleccionaron

botones florales que, por su apariencia externa, se suponían ontogenéticamente equivalentes. En caso contrario, la experiencia previa en el género sugiere dificultades pues aun en estos casos, el grado de madurez relativa de las flores de un mismo individuo es desparejo. Esto es particularmente crítico cuando se encaran estudios citológicos: la microesporogénesis tiene una madurez despareja en las flores o incluso en las anteras de un mismo individuo, con flores exomorfológicamente similares (Barral y col., 1995).

La megagametogénesis puede variar considerablemente entre individuos de la misma especie. Ese asincronismo morfológico y fisiológico durante la ontogenia persiste igualmente en el desarrollo de los frutos y las semillas, que aunque en su parte externa parezcan igualmente maduras, suelen presentar diferentes etapas en el desarrollo del embrión (Niklas, 1987; Ferreira y col., 1995).

Las muestras preseleccionadas para la obtención de secciones de estas flores se lavaron en agua repetidas veces y se conservaron en alcohol etílico 70° hasta el momento de proceder a deshidratarlas, incluirlas, cortarlas y colorearlas (Locquin y Langeron, 1985). Una vez preparados los bloques de parafina según los procedimientos convencionales, se realizaron cortes seriados longitudinales y transversales de los botones florales estaminados y pistilados. El espesor de las secciones varió según los casos entre 10 y 15 µm, utilizando un micrótopo rotatorio marca Reichert. Luego los cortes fueron coloreados con las tinciones de safranina, safranina *-fast green* o de safranina- azul de Alciana, según los protocolos del Jodrell Laboratory, Royal Botanic Gardens, Kew, Inglaterra. Los preparados definitivos fueron montados en bálsamo de Canadá o, alternativamente, en Canadax™.

A efectos comparativos, para este trabajo se consideraron solamente los cortes transversales de botones florales hechos en tres niveles: superior (afectando estambres o estaminodios, y el extremo del pistilodio o del gineceo), medio (a mitad de la altura del pistilodio o del gineceo) y basal (zona de unión de los lóbulos de los pétalos en un tubo corolino).

Las fotografías histológicas que se presentan se obtuvieron mediante: 1) un microscopio esteoscópico marca Zeiss provisto de una cámara adaptable MC 63, utilizando aumentos de 32x ó 50x, y 2) un fotomicroscopio marca Nikon. Las películas fotográficas fueron emulsiones para diapositivas

de sensibilidad; para copias en papel se usó 100 ISO-21 DIN.

Resultados

La anatomía de las flores en las especies estudiadas denota variaciones según la ontogenia en las flores postiladas y estaminadas: la madurez relativa de las flores es variable, inclusive entre los pimpollos pertenecientes a un mismo dicasio (que en el género es la inflorescencia elemental). No obstante, es posible esbozar un patrón común en la estructura interna floral, que se explica con referencia a las secciones longitudinales de los botones florales maduros (Figuras 3 y 4) y a secciones transversales efectuadas sobre botones florales con desarrollo equivalente en los tres niveles indicados en las figuras 3 y 4. Se describe entonces una conformación histológica general de cada uno de los sexos tal como fue encontrada en el conjunto de las especies estudiadas.

Flores pistiladas (♀)

La transección en el nivel superior, cercano al ápice del botón floral (Figura 5), interesa tanto a los pétalos como a los estaminodios y, eventualmente (según la especie tratada), también al ápice del gineceo (Figuras 5 y 6). Los pétalos tienen una histología casi foliar, con ambas epidermis (adaxial y abaxial) uniestratificadas y un mesófilo homogéneo, con un número variable de haces vasculares muy reducidos. En algunas especies (Tabla 1) como *I. paraguariensis*, las células de la epidermis adaxial de los pétalos es ligeramente papilosa (muy raramente la epidermis abaxial también lo es). No se pudo verificar en este estudio la existencia en los pétalos de papilas tan notables como las descritas por Schoenberg y Dinoutti (1989).

Los estaminodios (Figuras 3 y 5) exhiben anteras con sacos polínicos que contienen restos de tejidos juveniles colapsados, o vacíos (Figura 5), y nunca tienen granos de polen, como sucede en los estambres fértiles de las flores estaminadas (Figura 4). Sus anteras tampoco muestran un endotecio diferenciado y los haces vasculares, tanto de la antera como el del filamento, son más reducidos que en los estambres fértiles. En el material examinado en este estudio nunca se observaron casos de estaminodios transformados en pétalos o en estructuras transicionales, como lo informan Loesener (1942) y Schoenberg y Dinoutti (1989).

Gineceo

La epidermis del estigma tiene células de contenido denso pero no se observaron papilas estigmáticas. En vivo y macroscópicamente, la superficie del estigma está surcada y es húmeda. Según la exomorfología característica de cada especie y de acuerdo con el tipo de estigma –mamiforme, discoide o capitado– (Hu, 1949) se detecta una progresiva disminución de los tejidos glandulosos de la epidermis estigmática (se los observa progresivamente confinados a la periferia de la sección transversal del gineceo). Este proceso es acompañado por la aparición del parénquima fundamental del ovario (Figura 5), que rodea un tejido de transmisión (tejido estigmatoide) en el centro del órgano, (responsable de la estimulación del crecimiento del tubo polínico desde la superficie estigmática hasta la micrópila del óvulo).

En especies como *I. integerrima* o *I. theezans*, el acompañamiento vascular del tejido de transmisión llega casi al nivel del ápice del estigma. En sección transversal, el tejido de transmisión presenta tantas

ramas como lóculos o carpelos componen el ovario de cada flor en particular. El tejido de transmisión deja en el centro, en grado variable según la especie tratada, una cavidad que progresivamente se va ampliando a medida que desciende el nivel del corte en la flor. Este conducto de enlace entre el estigma y las cavidades locales se denomina cómpito (Figura 3) (Carr y Carr, 1961); posibilita que los tubos polínicos puedan cruzarse entre diversos carpelos (Endress, 1983; Endress e Igersheim, 2000).

Por otro lado, Schoenberg y Dinoutti (1989) llaman atrio al cómpito, y lo asimilan a una cavidad de ubicación comparable que se da en el pistilodio o gineceo estéril de estas especies. Cada una de las ramas del tejido de transmisión es acompañada por cierto número de haces vasculares placentarios. El número de haces placentarios por cada rama del tejido de transmisión se modifica según el nivel de corte (de acuerdo con el número de ramificaciones o fusiones que sufre cada haz vascular) y depende también de la vascularización floral propia de cada especie.

Tabla 1.- Distribución comparativa de los caracteres anatómicos en las especies estudiadas

| Especie | Papilas adaxial pétalos | Papilas abaxial pétalos | Papilas epidermis pistilodio | Papilas atrio pistilodio | Papilas epidermis estambre | Papilas epidermis estaminodio | Endotecio conspicuo |
|--------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|----------------------------------|------------------------|
| <i>I. argentina</i> | + | - | + | - | - | - | - |
| <i>I. brasiliensis</i> | + | - | + | + | + | (-) | (+) |
| <i>I. brevicuspis</i> | + | - | + | + | + | + | - |
| <i>I. chamaedryfolia</i> | + | - | + | + | ++ | (-) | ++ |
| <i>I. dumosa</i> | - | - | + | - | + | - | - |
| <i>I. integerrima</i> | - | - | ++ | + | - | + | - |
| <i>I. microdonta</i> | + | - | + | + | + | - | + |
| <i>I. paraguariensis</i> | + | - | + | - | - | - | - |
| <i>I. pseudobuxus</i> | - | + | (-) | (-) | (-) | + | - |
| <i>I. taubertiana</i> | - | + | (-) | (-) | (-) | + | - |
| <i>I. theezans</i> | - | - | + | + | - | + | - |

| Especie | Pétalos envolventes | Mesófilo pétalos coloreados | Inervación conspicua gineceo / pistilodio | Drusas gineceo | Drusas estaminodios | Drusas estambres | Drusas pétalos |
|--------------------------|------------------------|--------------------------------|--|-------------------|------------------------|---------------------|----------------|
| <i>I. argentina</i> | - | - | - | - | - | - | ++ |
| <i>I. brasiliensis</i> | - | (-) | (-) | - | - | + | + |
| <i>I. brevicuspis</i> | - | - | ++ | - | - | - | - |
| <i>I. chamaedryfolia</i> | - | - | (-) | - | - | - | - |
| <i>I. dumosa</i> | ++ | - | + | - | - | - | - |
| <i>I. integerrima</i> | - | ++ | ++ | - | - | - | - |
| <i>I. microdonta</i> | - | - | + | + | - | - | - |
| <i>I. paraguariensis</i> | - | - | + | - | - | - | - |
| <i>I. pseudobuxus</i> | + | - | - | + | ++ | (-) | - |
| <i>I. taubertiana</i> | - | - | - | ++ | - | (-) | - |
| <i>I. theezans</i> | - | + | ++ | - | - | - | - |

Referencias: ++ presencia abundante; + presencia; (+) presencia dudosa; - ausencia; (-) dato faltante o muy dudoso.

Nivel medio de las transecciones

El gineceo ya exhibe en transcorte los lóculos y los óvulos (Figura 7); los estaminodios ya no existen sino como filamentos en proceso de adhesión (adnación) a la corola; la cohesión de sus pétalos comienza el proceso de formación del breve tubo corolino-estaminal (Erbar, 1991). A su vez, los filamentos de los estaminodios se aproximan progresivamente a la epidermis ventral de los pétalos, y a medida que el nivel de las secciones transversales desciende, se aproxima al receptáculo, y se insinúa la fusión de los pétalos contiguos entre sí. Finalmente, por cohesión de los pétalos se forma un breve tubo corolino-estaminal (Figura 7) al que quedan adnatos los filamentos de los estaminodios, siempre alternipétalos.

Nivel inferior de las transecciones

Hacia la base de la flor, la cohesión de los sépalos contiguos y los procesos sucesivos de su adhesión a los otros ciclos florales ocurren en un grado y un nivel de corte variable según las especies estudiadas. Además, en todos los casos se verifica una progresiva desaparición de los óvulos y luego, de los lóculos (Figura 8), en tanto que los haces vasculares se van reorientando en forma compleja.

El receptáculo (Figura 9) es histológica y progresivamente más simple y caulinar, a medida que desciende el nivel de corte, entre la flor propiamente dicha y el pedicelo, que es un eje netamente caulinar con epidermis uniestratificada, en ocasiones algo pubescente y un cilindro vascular convencional.

No se observó en ningún caso la existencia de cavidades nítidamente abiertas que comuniquen el estigma con el centro del ovario, como informó Copeland (1963) para otras especies. Se supone que el dato de Copeland es dudoso, quizás sea el resultado de artefactos durante las fijaciones y preparaciones histológicas, ya que, hasta donde se sabe, todas las Aquifoliaceae son absolutamente sincárpicas y no hay en ellas procesos de fusión parcial de las hojas carpelares como los descritos para algunas Magnoliófitas primitivas (Endress y Igershein, 2000).

Flores estaminadas (♂)

De igual forma a lo efectuado en los casos de flores pistiladas de las mismas especies, se realizó el análisis de botones florales de desarrollo equi-

valente seccionados longitudinalmente (Figura 4) y transversalmente a partir del ápice hacia su base (Figura 10). Esto permite observar la variación continua de la aparición, la histología y la progresiva fusión y desaparición de los diferentes órganos que constituyen los ciclos externos protectores de la flor (perianto) y los sexuales (androceo fértil y gineceo abortado o pistilodio) de las flores estaminadas.

En el nivel de corte más próximo al ápice, la estructura anatómica de los pétalos es similar a la de los niveles equivalentes en las flores pistiladas. En *I. integerrima*, como en todas las de las especies aquí estudiadas, tienen ambas epidermis uniestratificadas, un mesófilo homogéneo y una reducida red vascular; además, hay varias capas de células con contenidos celulares oscuros inmediatamente por dentro de la epidermis inferior (Figura 11); *in vivo*, estas flores son de pétalos blanco-violáceos, aparentemente ricos en antocianos. En otras especies, la epidermis adaxial o ventral es levemente papilosa (por ejemplo, en *I. brasiliensis*, *I. chamaedryfolia*). Además, ambas epidermis pueden tener una cutícula rugosa, como en *I. chamaedryfolia*.

Los cortes efectuados en ese nivel, normalmente afectan las anteras de los estambres. Sus tecas, siempre fértiles, tienen granos de polen en sus sacos polínicos (Figuras 11 y 12). La epidermis de la antera, uniestratificada, en algunas especies es visiblemente papilosa, con papilas de magnitud variable, por ejemplo, *I. chamaedryfolia*, (Figura 13), *I. dumosa*, *I. microdonta* e *I. paraguariensis*.

Por fuera de los sacos polínicos, el tejido subyacente a la epidermis es un endotecio—uniestratificado o biestratificado— fuera de la zona de dehiscencia de la antera.

Raramente en especies como *I. dumosa* (Figura 12) e *I. pseudobuxus*, los plegamientos de los pétalos envuelven separadamente algunas tecas por dentro del botón floral.

El ápice del pistilodio (Figura 14), exomorfológicamente indistinguible del resto del órgano (a la inversa de lo que acontece con el estigma en el gineceo de las flores pistiladas), es glanduloso-papiloso y generalmente irregular o surcado; en algunas especies es manifiestamente papiloso (*Ilex argentina*, *I. brasiliensis*, *I. brevicuspis*, *I. chamaedryfolia*, *I. integerrima*, *I. paraguariensis*, etcétera).

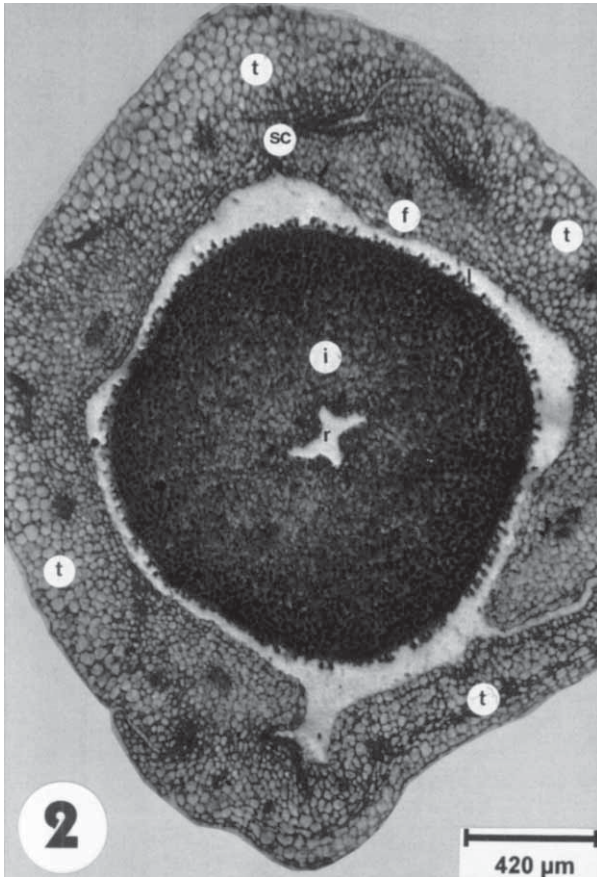


Figura 2.- Sección transversal de un botón floral estaminado de *Ilex theezans* efectuado en un nivel cercano a la base del pistilodio

El pistilodio (i) muestra una epidermis papilosa (l) y su cavidad del atrio (r) también exhibe una epidermis interna glandular. Rodeando el pistilodio, los pétalos (t) y los filamentos estaminales (f) se encuentran aún en un proceso de fusión, de esa forma conforman el tubo corolino estaminal (sc). (Leg. Giberti y otros 235).

Figura 3.- Sección longitudinal de un botón floral pistilado de *I. integerrima*

Pueden observarse los pétalos (t), estaminodios (s), ovario (b) y el estigma mamiforme (m). Dentro del ovario, cada lóculo (h) tiene solamente un óvulo (u). Se observan el tejido estigmatóide (j) que conecta la superficie externa estigmática con los óvulos, y algunas partes del cómpito (d). Los sépalos (z) están insertados por encima del receptáculo floral (q). El número que se exhibe a la derecha de la fotografía remite a la figura 5. (Leg. Giberti y otros 315).



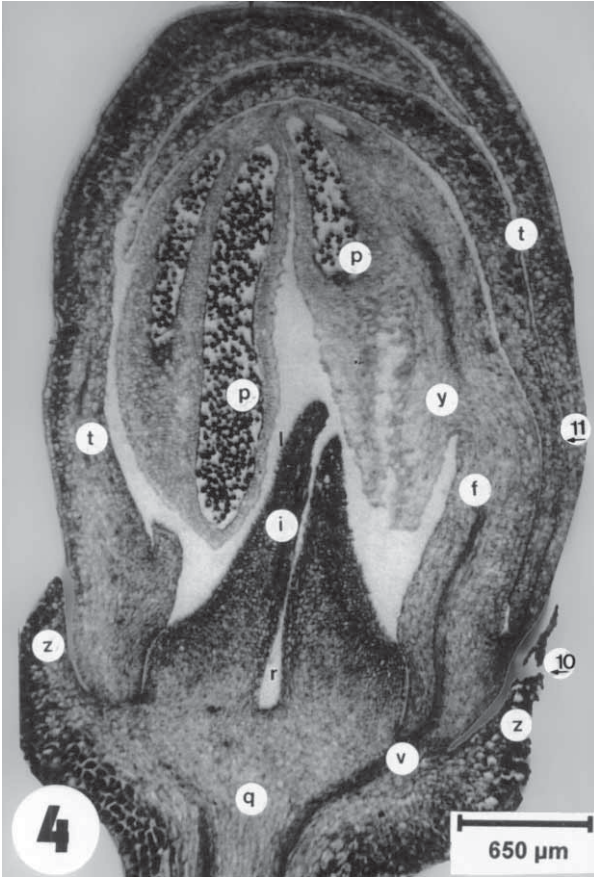


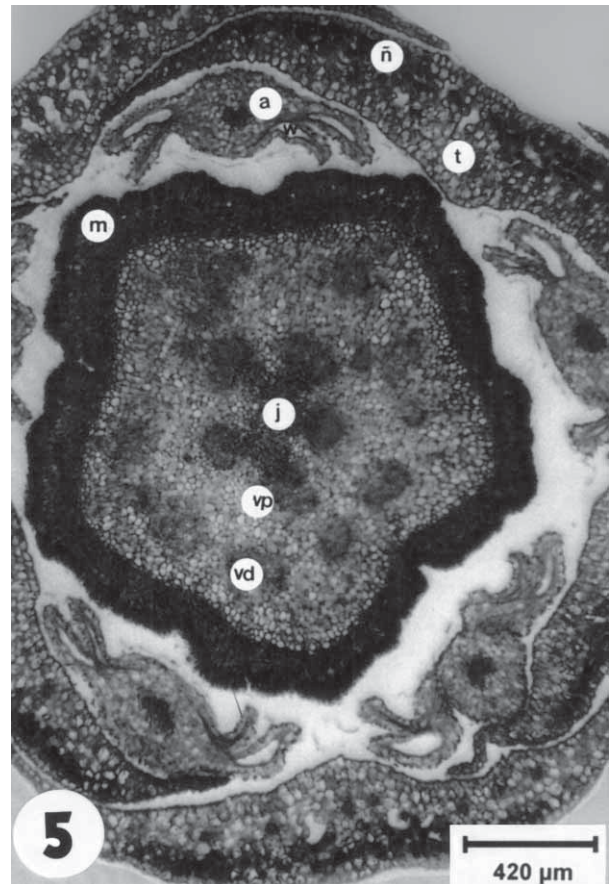
Figura 4.- Sección longitudinal de un botón floral estaminado de *I. integerrima*

Pueden verse la cavidad infundibiliforme (atrio = r) del pistilodio (i) y su epidermis externa, glándular y papilosa. Los números a la derecha de la fotografía indican los niveles aproximados de las transecciones que se muestran en las ilustraciones siguientes.

Referencias. Pétalos: t, estambres: y, sépalos: z, receptáculo: q, pistilodio: i, granos de polen: p, papilas: l, filamentos estaminales: f, atrio: r, haces vasculares: v. (Leg. Giberti y otros 277).

Figura 5.- Sección transversal de un botón floral pistilado de *I. integerrima* hecha en el nivel de corte indicado en la figura 3

Los pétalos (t) muestran ambas epidermis uniestratificadas rodeando un mesofilo pluriestratificado (ñ), algunas de cuyas células tienen contenidos celulares densamente oscuros. Las anteras (a) de los estaminodios muestran sacos polínicos estériles y vacíos (w). En la periferia del gineceo, el tejido estigmático externo (m) es cercano al tejido parenquimático fundamental del ovario, y en el centro del gineceo puede observarse un tejido estigματοide pentalobulado (j), acompañado por los haces vasculares placentarios internos (vp) y externos –dorsales– (vd). (Leg. Giberti y otros 315).



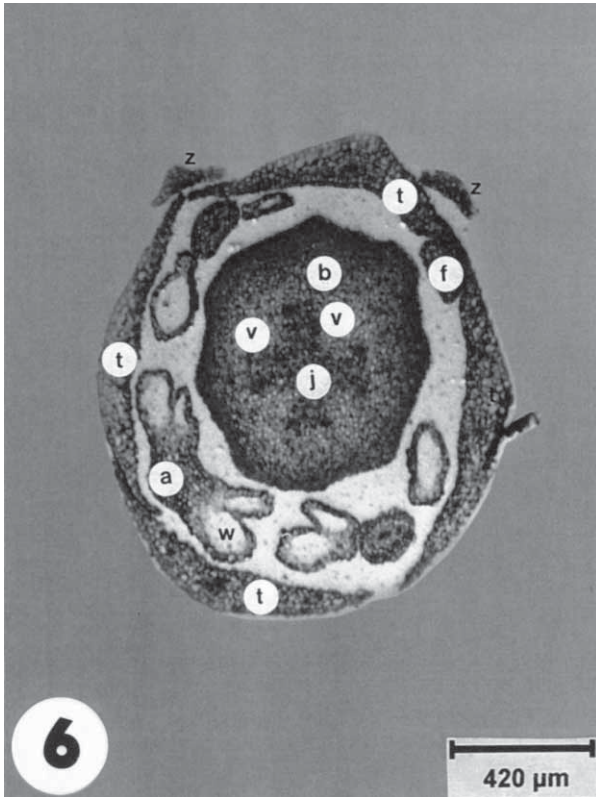


Figura 6.- Sección transversal de un botón floral pistilado de *Ilex pseudobuxus*

Desde la periferia hasta el centro de la sección se observan: dos sépalos (z) del cáliz; cuatro pétalos (t) en un proceso de incipiente fusión; tres anteras (a) de los estaminodios con sus sacos polínicos (w) vacíos y estériles; el filamento (f) de un cuarto estaminodio; el ovario (b) con un tejido estigmatoide (j) tetrarramificado ocupa el centro del órgano. Pueden verse asimismo haces vasculares (v). (leg. Giberti y otros 369).

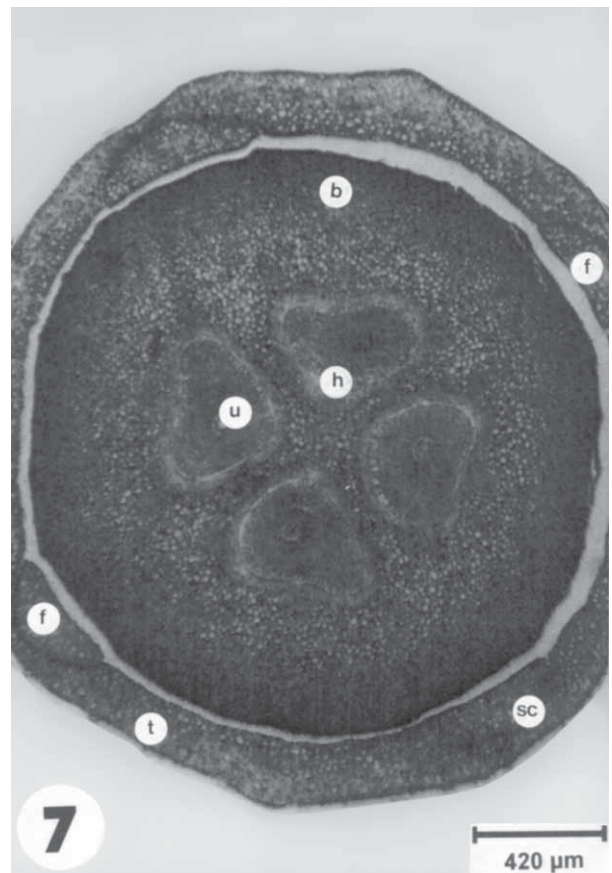


Figura 7.- Sección transversal de un botón floral pistilado de *I. taubertiana* efectuada en un nivel medio de corte

El ovario (b), que exhibe sus cuatro lóculos (h) casi completamente ocupados por óvulos (u), está rodeado por el tubo corolino-estaminal (sc), que se forma por los pétalos (t) ya fusionados y los filamentos (f) de los estaminodios; algunos de ellos todavía ligeramente separados del tubo de la corola. (Leg. Giberti y otros 267).

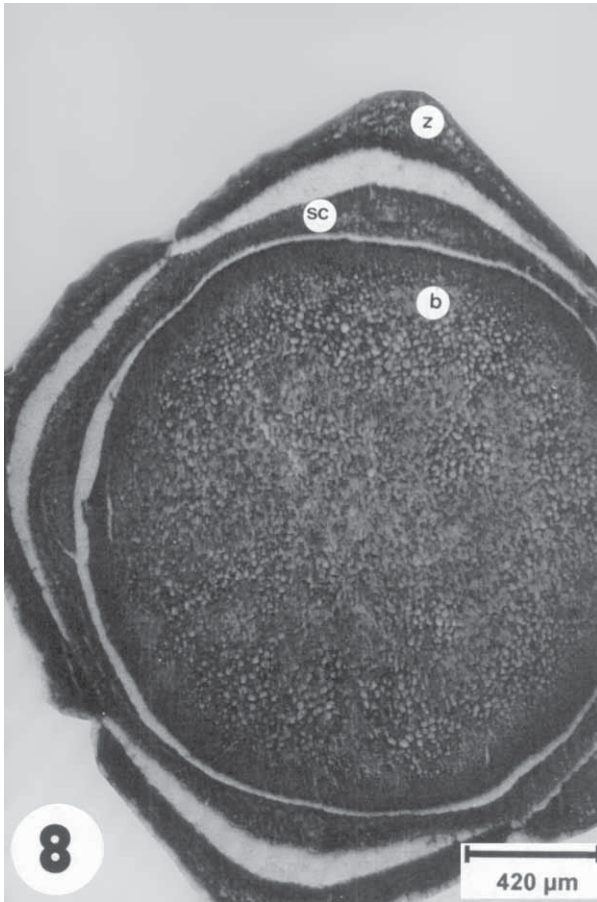


Figura 8.- Sección transversal de un botón floral pistilado de *I. taubertiana* realizada en un nivel de corte inferior al de la figura 7

Todavía pueden verse, parcialmente libres, algunos de los cuatro sépalos (z) del cáliz, rodeando al tubo corolino-estaminal (sc). El centro de la fotografía está ocupado por la base del ovario (b), donde ya no pueden ser observados los óvulos ni los lóculos. (Leg. Giberti y otros 267).

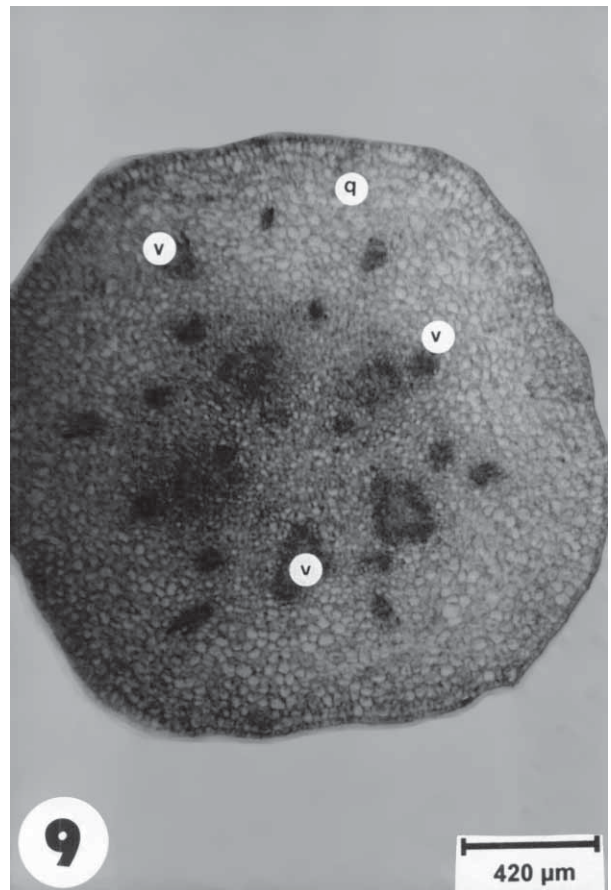


Figura 9.- Sección transversal de una flor estaminada de *Ilex argentina* hecha en el nivel del receptáculo floral

Pueden verse el receptáculo (q), muchos haces vasculares (v), responsables de la invasión de varios verticilos florales: algunos de esos haces están sometidos a un proceso de reordenamiento hasta adquirir el aspecto del cilindro vascular convencional del pedicelo. (Leg. Giberti 383).

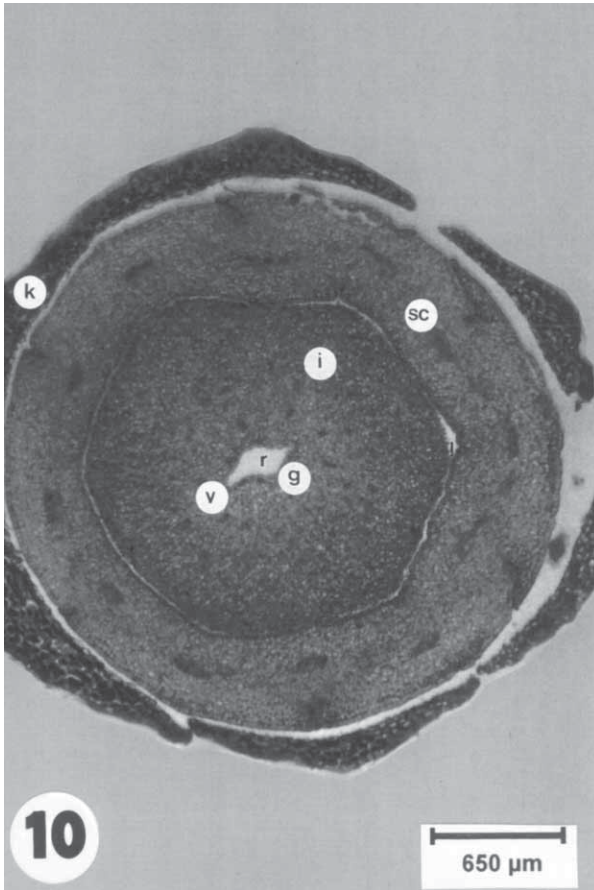
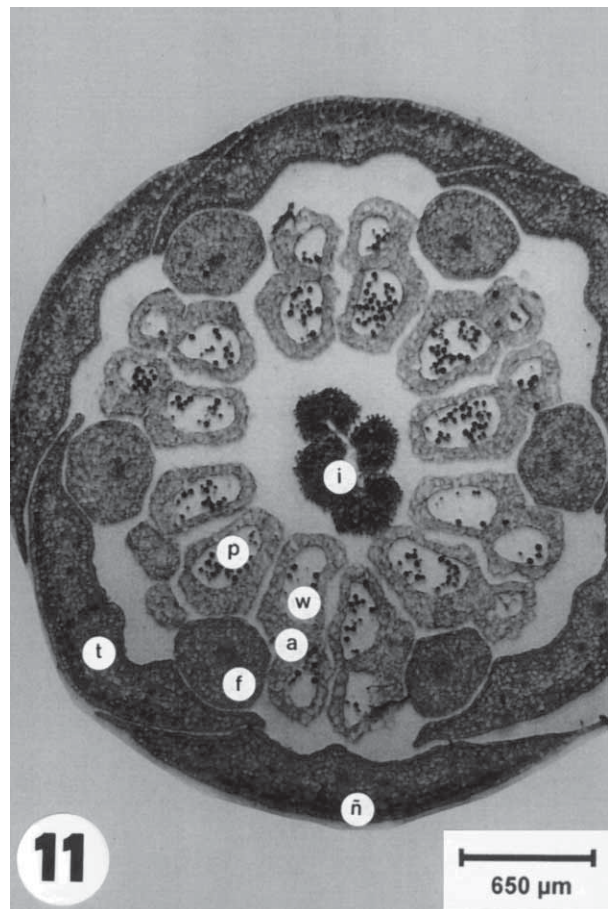


Figura 10.- Sección transversal de un botón floral estaminado de *Ilex integerrima* hecho en un nivel muy próximo a la base de la flor

Desde la periferia hacia el centro de la fotografía: el cáliz (k), cuyos sépalos experimentan un proceso de fusión; el tubo corolino-estaminal (sc); el pistilodio (i), su epidermis papilosa (l) y el área glandular interna (g) que rodea al atrio (r). Asimismo pueden observarse algunos haces vasculares (v). (Leg. Giberti y otros 277).

Figura 11.- Sección transversal de un botón floral estaminado pentámero de *Ilex integerrima*

Varias capas de células (ñ) densamente teñidas del mesófilo del pétalo pueden observarse por dentro de la epidermis dorsal; los filamentos estaminales (f) ya están separados de sus anteras (a) correspondientes. Sus sacos polínicos (w) muestran granos de polen (p). Cerca del centro de la foto puede observarse el ápice crateriforme, papiloso y surcado del pistilodio (i). Pétalo: t. (Leg. Giberti y otros 277).



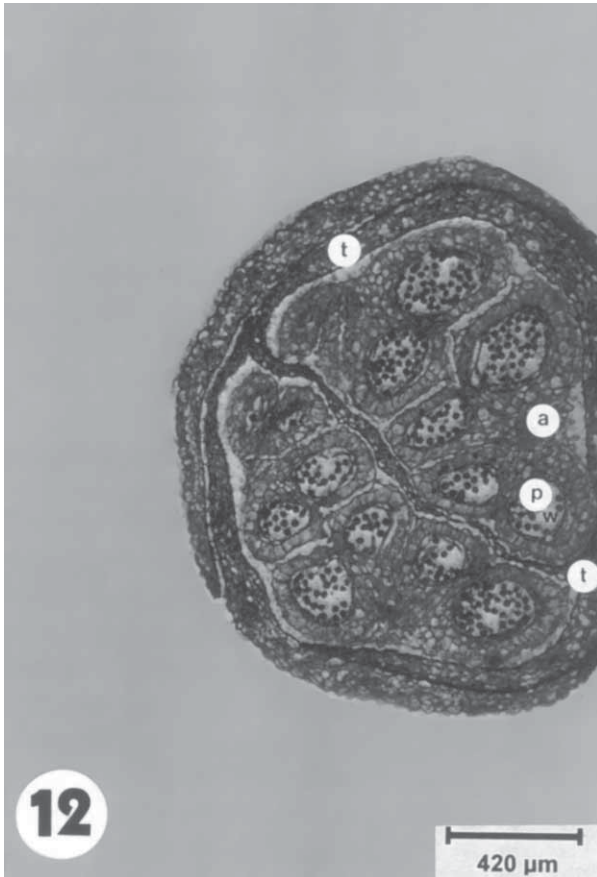


Figura 12.- Sección transversal de un botón floral estaminado de *Ilex dumosa*

Algunas anteras (a) de los estambres –cuyos sacos polínicos (w) muestran granos de polen (p)– están casi completamente rodeadas por algunos pétalos (t), que de esta forma subdividen la parte interna del botón floral. (Leg. Giberti y otros 266).

Figura 13.- Detalles observados en una sección transversal de un botón floral estaminado de *I. chamaedryfolia*

La epidermis de la antera es papilosa (l) y su endotecio (c) muestra engrosamientos en las paredes celulares radiales.

Referencias. Granos de polen: p; sacos polínicos: w; restos del tapete: ta. (Leg. Giberti y otros 271).



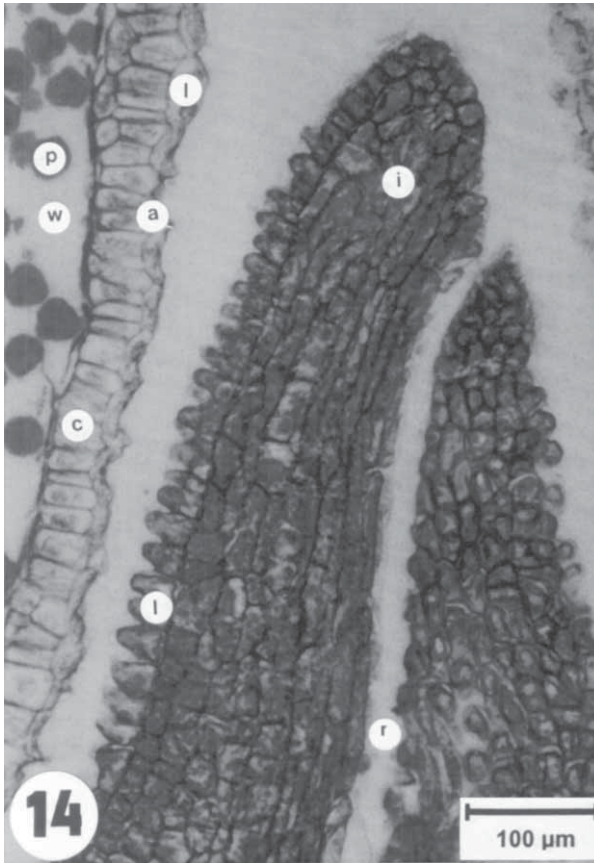


Figura 14.- Sección longitudinal del extremo apical del pistilodio de un botón floral estaminado de *I. integerrima*

Pueden observarse a la izquierda de la fotografía, algunos granos de polen (p) dentro del saco polínico (w) de una antera (a), y su endotecio (c). La epidermis externa de la antera exhibe algunas papilas (l); como la epidermis externa del pistilodio. También se puede observar la cavidad del atrio (r). (Leg. Giberti y otros 277).

Nivel medio de las transecciones

El pistilodio es histológicamente mucho más simple que el gineceo y no pueden distinguirse en él ciclos de haces vasculares como en el gineceo funcional, ni cómpito, lóculos, ni mucho menos, óvulos. A medida que el nivel de corte se aproxima a la base de la flor (Figura 2), a la par de aumentar el área seccionada del pistilodio, se distinguen mejor su epidermis del tejido fundamental que rodea a una capa glandulosa que tapiza una, o varias cavidades centrales o atrio, homólogas al cómpito de las flores pistiladas. En general, salvo en el ápice del pistilodio, estas células no son tan papilosas como las de la epidermis externa (Figura 2). Este grupo de células puede tratarse de un nectario. El pistilodio carece absolutamente de una diferenciación en forma de excrescencia apical tal como se da en su homólogo pistilado (no es comparable en absoluto a un estigma coronando un ovario como en la flor femenina). Asimismo, la inervación del pistilodio es mucho más pobre y simple que la del gineceo. No hay óvulos abortados ni otras estructuras.

Transecciones basales

Hacia la base de la flor se acentúan todos los procesos de cohesión y adnación de los órganos protectores y sexuales, que culminan siempre en el receptáculo habitual (Figura 9) en el que aún se ven los tejidos conductores separados como las trazas más o menos libres de los componentes de cada verticilo floral. No obstante, en algunos casos podría hablarse de haces vasculares dorsales y ventrales, estos últimos cercanos al atrio y relacionados con la inervación de los tejidos glandulosos que tapizan esa cavidad (Figura 10). La forma y la sección del atrio es variable según las especies tratadas, cfr. *I. theezans*, *I. paraguariensis*, etcétera. Las anteras desaparecen y se insinúa la formación del tubo corolino-estaminal y la adhesión de los filamentos estaminales.

Discusión y conclusiones

Sobre la simpetalía

En todos los casos estudiados, la cohesión o fusión de la totalidad de los pétalos entre sí conformando

un breve, aunque conspicuo tubo corolinoestaminal, ocurre más arriba del nivel de adhesión del verticilo con el receptáculo floral (Figuras 2, 7 y 10).

Consecuentemente, en las especies estudiadas, no se puede reconocer en absoluto una corola dialipétala, aunque puedan distinguirse en el extremo superior del tubo corolino-estaminal una serie de limbos de pétalos muy nítidamente separados entre sí. La evidencia anatómica concuerda entonces con el hallazgo empírico de las corolas completas caídas al piso al final del período de floración.

Debido a las limitaciones del material disponible, no fue posible estudiar la ontogenia floral en estas especies. En consecuencia, no se pudo determinar el “tipo” de simpetalía según Erbar (1991) y Erbar y Leins (1996) conforme a la modalidad de desarrollo presentada por la corola de estas flores. De acuerdo con los modernos estudios filogenéticos, la actual ubicación de las Aquifoliaceae en el orden Aquifoliales (Savolainen y col., 2000; APG II, 2003; Soltis y Soltis, 2004) y el posicionamiento de este orden entre las Euasteridae II (= Campanulidae) (Bremer y col., 2002; Judd y Olmstead, 2004) asigna al género *Ilex* un tipo de simpetalía “temprana” (Erbar, 1991; Erbar y Leins, 1996), es decir, que la fusión de los pétalos aparece como tal en las primeras etapas de la formación del botón floral; es decir, simultáneamente o antes de la formación de los lóbulos de la corola.

Diferencias y similitudes entre las especies estudiadas

Como se comentó, existe un patrón histológico común para las flores estaminadas y pistiladas en estas especies. No se encontraron grandes diferencias anatómicas entre ellas. La tabla 1 resume algunos caracteres diferenciales.

Yerba mate elaborada con restos florales incluidos

Se han presentado en este trabajo datos micrográficos variados que contribuyen a la interpretación de la histología floral de *Ilex paraguariensis* y especies afines.

Agradecimientos

Los autores agradecen a las instituciones que colaboraron con este estudio: Estación Experimental Agropecuaria Cerro Azul del INTA, Universidad de Buenos Aires, Consejo Nacional de Investigaciones

Científicas y Técnicas (Conicet), y Agencia Nacional de Promoción Científica. También agradecen a los colegas brasileños Dr. Dorli Da Croce, Eng. José A. T. das F. Picheth, Dr. Geraldo C. Coelho, entre muchos otros, que tuvieron la amabilidad de acompañarnos en múltiples viajes de colección.

Referencias bibliográficas

- Albach, D.C.; Soltis, P.E. and Soltis, D.E. (2001). “Patterns of embryological and biochemical evolution in the Asterids”. *Systematic Botany* 26: 242-262.
- Andrés, J.M. y Saura, F. (1945). “Los cromosomas de la yerba mate y otras especies del género *Ilex*”. *Publ. Inst. Genét. Fac. Agron. Vet. Buenos Aires* 2: 161-168.
- Anzótegui, L.M. y Garralla, S.S. (1986). “Estudio palinológico de la Formación Paraná (Mioceno superior) (“Pozo Josefina”, Provincia de Santa Fe, Argentina). I Parte: *Descripciones sistemáticas. FACENA* 6: 101-178.
- Angiosperm Phylogeny Group (APG II). (2003). “An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II”. *Bot. J. Linnean Soc.* 141: 399-436.
- Barral, G.; Poggio, L. and Giberti, G.C. (1995). “Chromosome numbers and DNA content from *Ilex argentina* (Aquifoliaceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 30: 243-248.
- Bawa, K.S. (1980). “Evolution of dioecy in flowering plants”. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 11: 15-39.
- Bremer, B.; Bremer, K.; Heidari, N.; Erixon, P.; Olmstead, R.G.; Anderberg, A.A.; Källersjö, M. and Barkhordarian, E. (2002). “Phylogenetics of asterids based on 3 coding and 3 non-coding chloroplast DNA markers and the utility of non-coding DNA at higher taxonomic levels”. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 24: 274-301.
- Carr, S.G.M. and Carr, D.J. (1961). “The functional significance of syncarpy”. *Phytomorphology* 11: 249-256.
- Clos, E.C. y Bellati, J.I. (1937). “Biología floral de la yerba mate (*Ilex paraguariensis* Saint-Hilaire)”. *Revista Argent. Agron.* 4: 273-277.
- Coelho, G.C. and Mariath, J.E.A. (1996). “Inflorescences morphology of *Ilex* L.

- (Aquifoliaceae) species from Rio Grande do Sul, Brazil". *Feddes Repert.* 107: 19-30.
- Copeland, H.F. (1963). "Structural notes on hollies (*Ilex aquifolium* and *I. cornuta*, family Aquifoliaceae)". *Phytomorphology* 13: 455-464.
- Dudle, D.A.; Mutikainen, P. and Delph, L.F. (2001). "Genetics of sex determination in the gynodioecious species *Lobelia siphilitica*: evidence from two populations". *Heredity* 86: 265-276.
- Edwin, G. y Reitz, R. (1967). "Aquifoliáceas". En: Reitz, R. (ed.). *Flora Ilustrada Catarinense*. I. Fascículo AQUI. Itajaí.
- Endress, P.K. (1983). "Reproductive structures of the flowering plants". *Progress in Botany* 45: 5467.
- Endress, P.K. and Igershein, A. (2000). "Gynoecium structure and evolution in basal Angiosperms". *Int. J. Pl. Sci.* 161 (6 Suppl.): S211-S223.
- Engler, A. und Diels, L. (1936). "A Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien". Elfte Auflage, G. Borntraeger, Berlin: XLII.
- Erbar, C. (1991). "Sympetaly - A systematic character?" *Bot. Jahrb. Syst.* 112: 417-451.
- Erbar, C. and Leins, P. (1996). "Distribution of the character states 'early' and 'late sympetaly' within the Sympetalae Tetracyclae and presumably related groups". *Botanica Acta* 109: 427- 440.
- Ferreira, A.G.; Almeida-Cortez, J.S. y Gonçalves Cunha, G. (1995). "Fisioecología de *Ilex paraguariensis* com ênfase na embriologia experimental" In: Winge, H.; Ferreira, A.G.; Mariath, J.E. de A. y Tarasconi, L.C. (eds.). *Erva-Mate: biologia e cultura no Cone Sul*. Editora da Universidade, UFRGS, Porto Alegre: 161-172.
- Foltan, H. and Lüdders, P. (1994). "Flowering and sex expression in cashew (*Anacardium occidentale* L.)". *Angewandte Botanik Berichte* 5: 203-207.
- Giberti, G.C. (1979). "Las especies argentinas del género *Ilex* L. (Aquifoliaceae)". *Darwiniana* 22: 217-240.
- Giberti, G.C. (1989). "Los parientes silvestres de la yerba mate y el problema de su adulteración". *Dominguezia* 7: 3-21.
- Giberti, G.C. (1994a). Aquifoliaceae. En: Spichiger, R. and Ramella, L. (dir.) *Flora del Paraguay*, 24. Editions des Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève. Missouri Botanical Garden, Suiza: 34 pp.
- Giberti, G.C. (1994b). "Aquifoliaceae". En: *Flora Fanerogámica de Argentina*. Fascículo 1 (157). Programa PROFLOTA (CONICET), Museo Botánico, IMBIV, Córdoba, Argentina.
- Giberti, G.C. (1995). "*Ilex* en Sudamérica, Florística, Sistemática y Potencialidades con relación a un Banco de Germoplasma para la Yerba Mate" En: Winge, H. y col. (eds.), "Erva-Mate: biologia e cultura no Cone Sul". Editora da UFRGS, Porto Alegre: 303-312.
- Giberti, G.C. (2001). "Diferentes aspectos del género *Ilex* (Aquifoliaceae)". Corología, arquitectura floral, posición sistemática». Disertación. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.
- Gottlieb, A.M.; Giberti, G.C. and Poggio, L. (2005). "Molecular analyses of the genus *Ilex* (Aquifoliaceae) in Southern South America, evidence from AFLP and ITS sequence data". *Am. J. Bot.* 92: 352-369.
- Herr, J.M. (1959). "The development of the ovule and megagametophyte in the genus *Ilex* L." *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.* 75: 107-128.
- Heslop-Harrison, J. (1956). "The experimental modification of sex expression in flowering plants". *Biolog. Reviews* 32: 38-90.
- Heslop-Harrison, J. and Shivanna, K.R. (1977). "The receptive surface of the Angiosperm stigma". *Ann. Bot.* 41: 1233-1258.
- Hibberd, S. (1877). "The flowering and fruiting of the holly". *The Gardeners' Chronicle* 2: 776-777.
- Hu, S.-Y. (1949). "The genus in *Ilex* China". *J. Arn. Arbor.* 30: 233-344.
- Johansen, D.A. (1940). *Plant Microtechnique*. McGraw Hill Book Co., Inc., New York.
- Judd, W.S. and Olmstead, R.G. (2004). "A survey of Tricolpate (Eudicot) phylogenetic relationships". *Am. J. Bot.* 91: 1627-1644.
- Lobreau-Callen, D. (1975). "Les variations dimensionnelles du pollen du genre *Ilex* (Aquifoliaceae) et leur rapports avec le climat". *Bull. Soc. Bot. France Coll. Palynologie* 122: 179-199.
- Locquin, M. y Langeron, M. (1985). "Manual de Microscopía". Labor S. A., Barcelona.
- Loesener, T. (1901). "Monographia Aquifoliacearum". I. *Nova Acta Acad. Caes. Leop. - Carol. German. Nat. Curios.* 78: pp. VIII + 598 + 15 pl.
- Loesener, T. (1908). "Monographia Aquifoliacearum". II. *Nova Acta Acad. Caes. Leop. - Carol. German. Nat. Cur.* 89: 2; 313 y 3 mapas.

- Loesener, T. (1919). Über die Aquifoliaceen, besonders über *Ilex*. *Mitt. Deut. Dendrol. Ges.* 28: 1-66.
- Loesener, T. (1942). "Aquifoliaceae". En: Harms, H. y Mattfeld, D.J. (eds.), *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*, 2ª ed. 20 b. Duncker & Humblot, Berlin, reprint 1960: 36-86.
- Loizeau, P. A. (1994). "Les Aquifoliaceae péruviennes (Eléments pour une révision des Aquifoliaceae néotropicales)". *Boissiera* 48.
- Loizeau, P.A. and Spichiger, R. (1992). "Proposition d'une classification des inflorescences d' L. (Aquifoliaceae)". *Candollea* 47: 97-112.
- Martin, H. (1977). "The history of *Ilex* (Aquifoliaceae) with special reference to Australia: evidence from pollen". *Austral J. Bot.* 25: 655-673.
- Niklas, C.O. (1987). "Estudios embriológicos y citológicos en la Yerba Mate *Ilex paraguariensis* (Aquifoliaceae)". *Bonplandia* 6: 45-56.
- Obeso, J.R.; Álvarez-Santullano, M. and Retuerto, R. (1998). "Sex ratios, size distribution and sexual dimorphism in the dioecious tree *Ilex aquifolium* (Aquifoliaceae)". *Amer. J. Bot.* 85: 1602-1608.
- Peterken, G. F. and Lloyd, P.S. (1967). "Biological flora of the British Isles: *Ilex aquifolium* L.". *J. Ecol.* 55: 841-858.
- Raven, J. A. and Weyers, J. D. B. (2001). "Significance of epidermal fusion and intercalary growth for Angiosperm evolution". *Trends Pl. Sci.* 6: 111-113.
- Savolainen, V.; Fay, M.F.; Albach, D.C.; Backlund, A.; Van der Bank, M.; Cameron, K.M.; Johnson, S.A.; Lledó, M.D.; Pintaud, J.C.; Powell, M.; Sheahan, M.C.; Soltis, D.E.; Soltis, P.S.; Weston, P.; Whitten, W.M.; Wurdack, K.J. and Chase, M.W. (2000). "Phylogeny of the eudicots: a nearly complete familial analysis based on *rbcL* gene sequences". *Kew Bull.* 55: 257-309.
- Schoenberg, M.M. y Dinoutti, L.A. (1989). "Ontogênese do Fruto de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. I-Morfologia Externa e Interna da Flor". *Estudos de Biologia*. Pontificia Universidade Católica do Paraná 22: 5-35.
- Shamrov, I.I. (2000). "The integument of flowering plants. Developmental patterns and evolutionary trends". *Acta Biolog. Cracoviensis, Series Botanica* 42: 9-201.
- Shemluck, M. (1979). "The flowers of *Ilex guayusa*". *Bot. Mus. Leaflets* 27: 155-160.
- Soltis, P.M. and Soltis, D. E. (2004). "The origin and diversification of Angiosperms". *Am. J. Bot.* 91: 1614-1626.