ISSN 0373-580 X
Bol. Soc. Argent. Bot. 47 (1-2): 87-96. 2012

Diversidad de orbículas en Poaceae

MARCELO R. LOVISOLO[1] y BEATRIZ G. GALATI[2]

Summary: Orbicules diversity in Poaceae. Anthers of ten species of Poaceae from the province of Buenos Aires (Argentina) were investigated with scanning and transmission electron microscopes. The orbicules can be defined as corpuscles of variable size that show the same electron-density, reaction to the dyes, autofluorescence and resistance to acetolysis as pollen exine does. The orbicules are randomly dispersed on the inner anther locule and they are often attached to a tapetal membrane. In this study, four different types and four subtypes of orbicules were identified. We conclude that the different orbicules types described in this work are representative of the studied tribes, and we suggest that the orbicules morphology may be a useful character in systematic studies.

Key words: Orbicules, ultrastructure, Poaceae.

Resumen: Anteras de diez especies de Poaceae de la Provincia de Buenos Aires (Argentina) fueron investigadas con microscopio electrónico de barrido y de transmisión. Las orbículas pueden ser definidas como corpúsculos de tamaño variable que muestran la misma electrodensidad, reacción a los colorantes, autofluorescencia y resistencia a la acetólisis que la exina del grano de polen. Las orbículas se encuentran revistiendo el interior del lóculo de la antera, a menudo adheridas a una membrana tapetal. En este estudio se identificaron cuatro tipos y cuatro subtipos diferentes de orbículas. Se concluye que los distintos tipos morfológicos de orbículas descriptos en este trabajo son representativos de cada una de las tribus estudiadas, por lo que se sugiere que la morfología de estos corpúsculos podría ser un carácter utilizado en estudios sistemáticos.

Palabras clave: Orbículas, ultraestructura, Poaceae.

Introducción

Las orbículas o cuerpos de Ubisch pueden ser definidos como corpúsculos de tamaño variable (0,14um -20um) que muestran la misma respuesta a las coloraciones, electrodensidad, autofluorescencia y resistencia a la acetólisis que la exina del grano de polen. Las orbículas se encuentran revistiendo el interior del lóculo de la antera, a menudo adheridas a una membrana tapetal o peritapetal (Galati, 2003; Galati *et al.*, 2010).

Heslop-Harrison (1968) fue el primero en nombrar a estos cuerpos como orbículas, pero Bhandari (1984) prefirió seguir denominándolos cuerpos de Ubisch debido al prolongado uso de este término en la bibliografía ya existente. A partir de ese momento, los autores usan ambos nombres de manera indistinta.

El paralelismo entre la exina del grano de polen y las paredes de las orbículas fue explicado por Hess (1985, 1986) basándose en la homología o parentesco entre el tapete y el tejido esporógeno. Este autor considera que las células tapetales podrían potencialmente formar su propia pared de esporopolenina. Teniendo en cuenta las consideraciones de Hess (1985, 1986), podríamos pensar que si la ornamentación de la pared del grano de polen es utilizada como una característica de valor sistemático, las orbículas también podrían ser consideradas de ese modo. De acuerdo a Huysmans et al. (1998) la ornamentación superficial de las orbículas y de la pared del grano de polen en determinadas especies es similar.

[1] Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Lomas de Zamora. mlovisolo@gmail.com
[2] Cátedra de Botánica Agrícola. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Buenos Aires. galati@agro.uba.ar

Según Rowley (1963), la forma y el origen de las orbículas son diferentes en las distintas especies de plantas. Heslop-Harrison (1962) da evidencias de la existencia de diferencias entre las orbículas a nivel genérico. Banerjee (1967) considera que las diferencias encontradas entre las distintas especies de Poaceae estudiadas pueden ser usadas taxonómicamente. Así, el tamaño y la forma de las orbículas, como también su distribución sobre la membrana tapetal es diferente para las distintas especies.

El valor taxonómico de las características de las orbículas sólo fue tratado en algunos pocos taxa de angiospermas: la familia Chloranthaceae, ahora incluida en Lamiaceae (Raj & El-Ghazaly, 1987); el género *Euphorbia* L. (El-Ghazaly, 1989; El-Ghazaly & Chaudhary, 1993); la sub-familia Cinchonoideae de Rubiaceae (Huysmans *et al.*, 1997), el orden Gentianales (Vinckier *et al.*, 2000; Vinckier & Smets, 2002 a, b, c, 2003) y los géneros *Dioscorea* L. (Schols *et al.*, 2001) y *Oxalis* L. (Rosenfeldt & Galati, 2008).

En este trabajo se realizó el estudio de la morfología y ultraestructura de las orbículas en 10 especies de Poaceae pertenecientes a tres subfamilias distintas (Pooideae, Chloridoideae y Panicoideae) utilizando Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) y Microscopio Electrónico de Transmisión (MET), con el objetivo de aportar información sobre la utilidad de estos corpúsculos en la taxonomía de la familia Poaceae.

Materiales y Métodos

Los materiales fueron recolectados en la Depresión del Salado, Provincia de Buenos Aires, Argentina, y todos los especímenes fueron herborizados y numerados en el Herbario del Instituto de Botánica Darwinion (SI).

Briza subaristata Lamarck. ARGENTINA. *Prov. Buenos Aires: Partido de Chascomús*, Ruta 58, Camino a Comandante Giribone, 14-XI-2001, Lovisolo, M. 2. (SI).

Glyceria multiflora Steudel. ARGENTINA. *Prov. Buenos Aires: Partido de Coronel Brandsen*, Ruta 29, 40 kms. antes de llegar a Ranchos, 14-XI-2001, Lovisolo, M. 3. (SI).

Melica brasiliana P. Arduinus. ARGENTINA. *Prov. Buenos Aires: Partido de Chascomús*, Ruta 58, Camino a Comandante Giribone, 14-XI-2001, Lovisolo, M. 5. (SI).

Chaetotropis imberbis (Kunth) Björkman. var. ***imberbis***. ARGENTINA. *Prov. Buenos Aires: Partido de Chascomús*, Ruta 29, Camino Brandsen – Chascomús, 14-XI-2001, Lovisolo, M. 4. (SI).

Deyeuxia viridiflavescens (Poir.) Kunth. var. ***montevidensis*** (Nees) Cabrera y Rúgolo. ARGENTINA. *Prov. Buenos Aires: Partido de Coronel Brandsen*, Ruta 29, 30 kms. antes de llegara Ranchos, 14-XI-2001, Lovisolo, M. 1. (SI).

Distichlis laxiflora Hackel. ARGENTINA. *Prov. Buenos Aires: Partido de Coronel Brandsen*, Ruta 29, 10 kms. antes de llegar a Coronel Brandsen, 19-XII-2001, Lovisolo, M. 12. (SI).

Distichlis laxiflora Hackel. ARGENTINA. *Prov. Buenos Aires: Partido de General Paz. Ranchos*, Ruta 29, 5 kms. antes de llegar a Villanueva, 16-I-2002, Lovisolo, M. 18. (SI).

Distichlis spicata (L.) Greene. ARGENTINA. *Prov. Buenos Aires: Partido de Coronel Brandsen,* Ruta 29, 20 kms. antes de llegar a Ranchos, 16-I-2002, Lovisolo, M. 17. (SI.

Eleusine tristachya (Lam.) Lam. ARGENTINA. *Prov. Buenos Aires: Partido de Coronel Brandsen*, Ruta 29, 30 kms. antes de llegar a Ranchos, 14-XI-2001, Lovisolo, M. 8. (SI).

Paspalidium geminatum (Forssk.) Stapf, ex ***Paspalidium paludivagum*** (Hitchc. et Chase) Parodi. ARGENTINA. *Prov. Buenos Aires: Partido de Coronel Brandsen*, Ruta 29, 40 kms. antes de llegar a Ranchos, 19-XII-2001, Lovisolo, M. 13. (SI).

Stenotaphrum secundatum (Walt.) Kuntze. ARGENTINA. *Prov. Buenos Aires: Partido de Chascomús*, Ruta 58, Camino a Comandante Giribone, 14-XI-2001, Lovisolo, M. 16. (SI).

La siguiente metodología fue desarrollada para realizar observaciones de todas las especies con Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) y

Microscopio Electrónico de Transmisión (MET).

Anteras maduras fijadas en FAA fueron deshidratadas en una serie ascendente de acetonas y luego secadas al aire. Se montaron en una platina metálica y se metalizaron con oro-paladio para luego ser observadas y fotografiadas. Las observaciones se realizaron con un microscopio electrónico de barrido Philips XL 30.

Para microscopía electrónica de transmisión, las anteras fueron fijadas en glutaraldehído al 3%, en buffer fosfato durante 4-24 horas y post-fijadas en tetróxido de osmio al 1,5% en igual buffer durante 4 horas. El material se incluyó en resina epoxy y se obtuvieron cortes ultrafinos de 750-900 nm de espesor con un ultramicrótomo Sorvall. Los mismos se colorearon con acetato de uranilo y citrato de plomo (solución de Reynolds) (O'Brien & Mc. Cully, 1981). Las observaciones se realizaron con un microscopio electrónico de transmisión Jeol-Jem 1200 EXII a 85 kV.

Se realizaron observaciones en 10 anteras maduras, previo a la dehiscencia, de distintos individuos de cada especie. El valor del diámetro de las orbículas se obtuvo como promedio de 10 mediciones realizadas en cada especie.

Resultados

Morfología general de las orbículas

Las orbículas son esféricas a sub-esféricas o tipo placa. Poseen un corazón central (cc) transparente a los electrones a la madurez, y una pared de esporopolenina con microcanales que la atraviesan y espículas superficiales (Fig. 1 A, B). La distribución sobre la membrana tapetal es variable.

Las orbículas pueden presentar conexiones o puentes de unión de esporopolenina entre ellas. Ocasionalmente forman pequeños agregados de 2 o 3 orbículas por fusión de sus paredes.

De acuerdo a las diferencias encontradas en las distintas especies estudiadas, se pudieron establecer cuatro tipos distintos, dos de ellos con dos subtipos cada uno.

TIPO A:

Orbículas esféricas, de 1µm de diámetro. Espículas cortas y de extremos sub-agudos. La distribución sobre la membrana tapetal es uniforme.

Taxa incluidos: *Gliceria multiflora* y *Melica brasiliana.* (Fig. 2 A, B, C, D).

TIPO B:

Orbículas esféricas, de 0,6 a 0,9 µm de diámetro. Espículas largas y de extremos agudos.

Subtipo B1

Distribución sobre la membrana tapetal uniforme. Taxa incluidos: *Chaetotropis inberbis* y *Deyeuxia viridiflavescens.* (Fig. 2 E, F, G, H).

Subtipo B2

Distribución sobre la membrana tapetal en grupos aislados. Taxa incluidos: *Briza subaristata.* (Fig. 3 I, J).

TIPO C:

Orbículas tipo placa, de 0,8 a 1µm de diámetro. Espículas largas y de extremos romos. Distribución sobre la membrana tapetal densa y uniforme.

Subtipo C1

Orbículas plano-convexas, con la cara convexa orientada hacia el interior del lóculo. Taxa incluidos: *Distichlis spicata* y *D. laxiflora. (*Fig. 3 K, L, M, N).

Subtipo C2

Orbículas con ambas caras planas. Taxa incluidos: *Eleusine tristachya.* (Fig. 4 O, P).

TIPO D:

Orbículas esféricas a sub-esféricas, de 0,9 a 1µm de diámetro. Espículas cortas y de extremos romos. Distribución sobre la membrana tapetal densa y uniforme, y recubiertas por una sustancia tipo "pollenkitt". Taxa incluidos: *Paspalidium geminatum* y *Stenotaphrum secundatum.* (Fig. 4 Q, R, S, T).

Los resultados y las taxa se resumen en la Tabla 1.

Discusión

La morfología general de las orbículas de las especies analizadas en este trabajo concuerda en líneas generales con la de otras especies de la

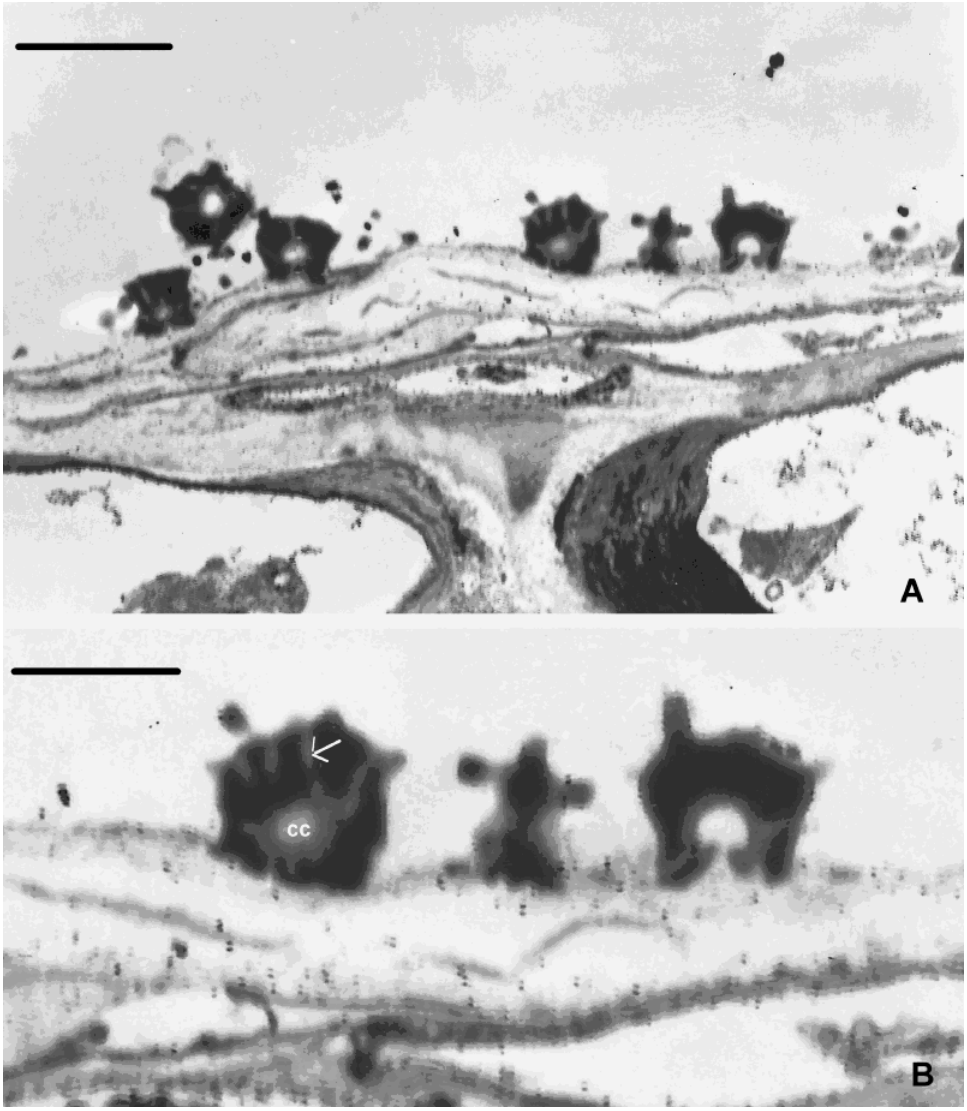

Fig. 1. **A-B**: Orbículas con Microscopio electrónico de transmisión en *Eleusine tristachya.* Cc, corazón central. Flecha, microcanal de la pared. Escalas A: 2 µm, B: 1 µm.

misma familia estudiadas previamente (Banerjee, 1967; Christensen *et al.*, 1972; El-Ghazaly & Jensen, 1987; Steer, 1977). Por lo tanto, de acuerdo a los estudios realizados hasta el momento podemos definir a las orbículas de Poaceae como corpúsculos de forma variable, con un corazón central transparente a los electrones y una pared de esporopolenina con microcanales que la atraviesan y espículas superficiales. Este tipo de orbículas concuerda con el Tipo A3 de la clasificación de Galati (2003).

Todos los individuos investigados de una misma especie presentaron el mismo tipo de orbículas, por lo que la variación morfológica intraespecífica puede ser descartada.

Las orbículas de las especies estudiadas en este trabajo presentan diferencias en la forma y en el tamaño promedio. Variación en el tamaño dentro de una misma especie se encontró en alguno de los especímenes analizados. La variación de tamaño fue previamente observada en numerosas

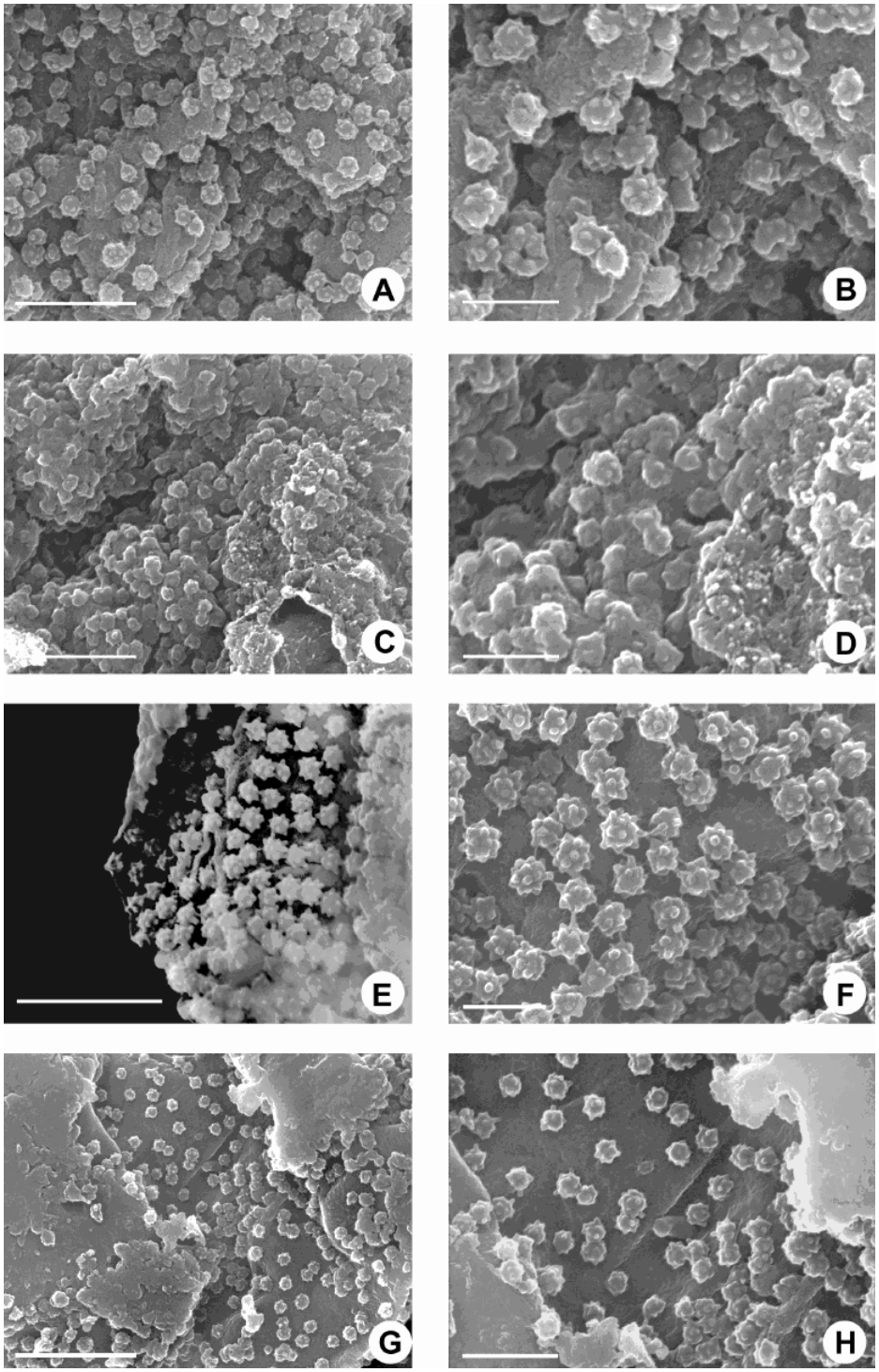

Fig. 2. A–H: Orbículas con Microscopio electrónico de barrido, observación de la superficie interna del lóculo de la antera. **A–B**: *Glyceria multiflora*. **C–D**: *Melica brasiliana*. **E-F**: *Chaetotropis imberbis* var. *imberbis*. **G–H**: *Deyeuxia viridiflavescens* var. *montevidensis*. Escalas A, C, E, G: 5 µm, B, D, F, H: 2 µm.

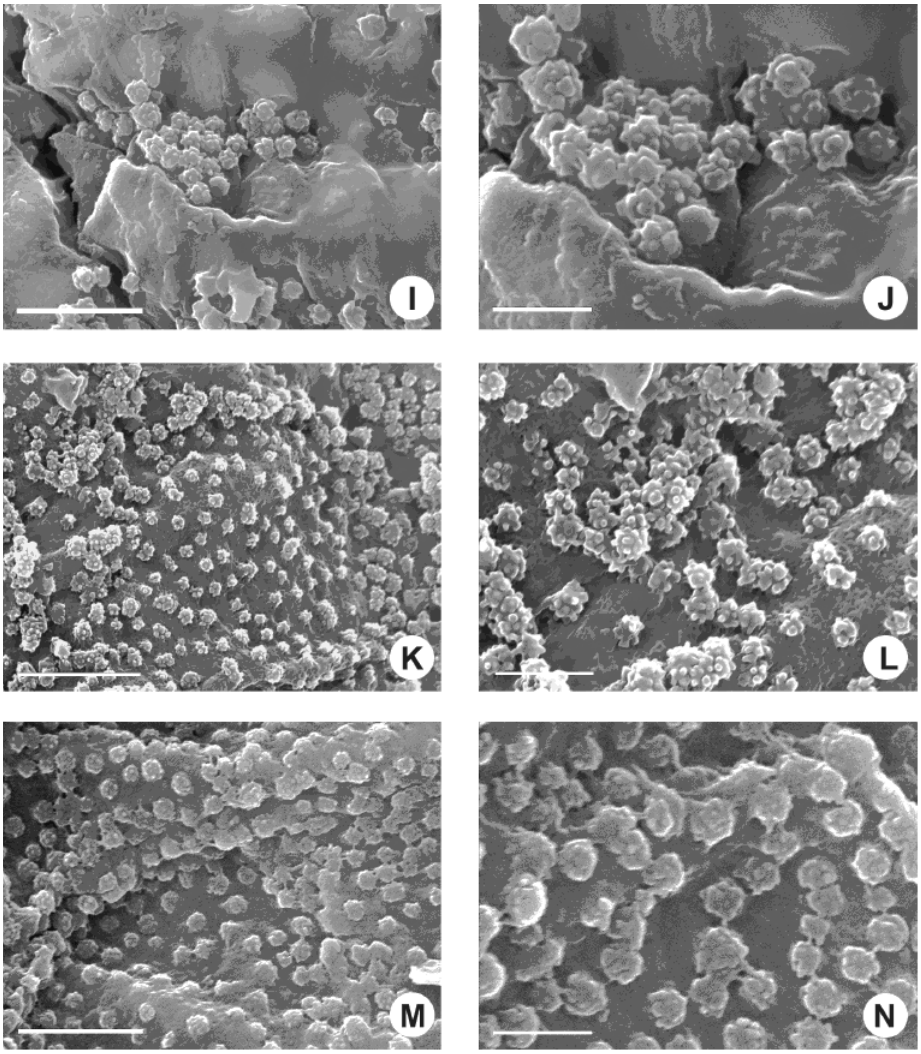

Fig. 3. I–N: Orbículas con Microscopio electrónico de barrido, observación de la superficie interna del lóculo de la antera. **I–J**: *Briza subaristata*. **K–L**: *Distichlis spicata*. **M-N**: *Distichlis laxiflora*. Escalas I, K, M: 5 µm, J, L, N: 2 µm.

especies del genero *Euphorbia* (El-Ghazaly, 1989; El-Ghazaly & Chaudhary, 1993) y de la tribu Cinchonoideae (Rubiaceae) (Huysmans *et al.*, 1997). De acuerdo con Rowley & Walles (1985, 1987) y El-Ghazaly & Nilsson (1991), la variación intraespecífica en el tamaño puede ser atribuida al cambio del ciclo hiperactivo de las células tapetales durante su desarrollo.

Ocasionalmente, las orbículas pueden fusionarse y formar pequeños agregados. Este es un hecho que ha sido comúnmente observado en otras especies de Angiospermas (Galati & Strittmatter, 1999; Galati, 2003).

Paspalidium geminatum y *Stenotaphrum secundatum* se distinguen porque sus orbículas presentan una cubierta que hace recordar al polen-kit presente en muchas Angiospermas polinizadas por insectos. De acuerdo a Vinckier & Smets (2001), las orbículas, y entre ellas las de Poaceae, pueden cumplir un rol como posibles vectores de alérgenos junto con el polen. La presencia de sustancias del tipo polen-kit podría estar contribuyendo a que

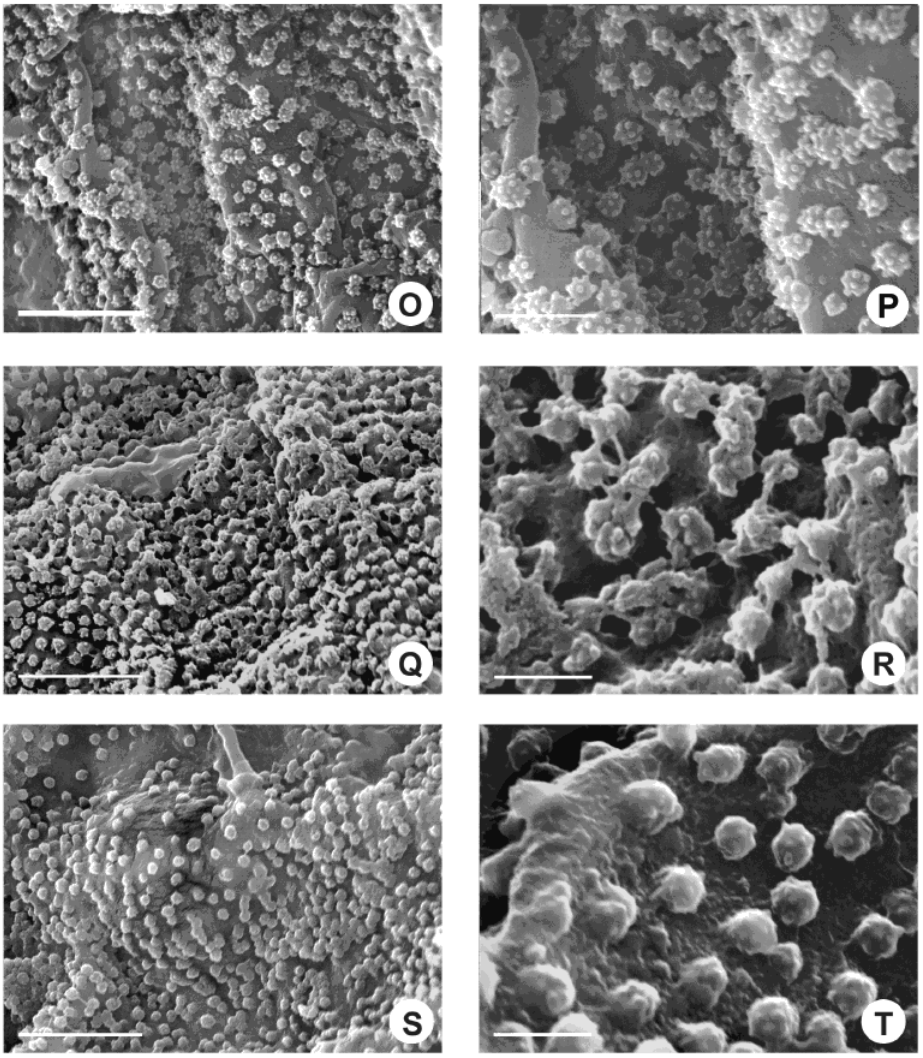

Fig. 4. O–T: Orbículas con Microscopio electrónico de barrido, observación de la superficie interna del lóculo de la antera. **O–P**: *Eleusine tristachya.* **Q–R**: *Paspalidium geminatum*. **S-T**: *Stenotaphrum secundatum*. Escalas O, Q, S: 5 µm, P: 2 µm, R, T: 1 µm.

estos corpúsculos actúen en este sentido.

Se considera que generalmente la polinización en las Poaceae es anemófila. Sin embargo, Pant et al. (1982) observaron que en las espiguillas de *Dichanthium annulatum* la polinización es entomófila, producida por una especie de abeja de reducido peso corporal, *Apis indica*. También Bogdan (1962) estudió numerosos géneros de gramíneas que eran polinizados por *Apis melifera*. Por otra parte, algunos géneros de bambusoideas herbáceas son polinizadas por insectos (Soderstrom & Calderón 1971). La presencia de "pollenkitt" en *Paspalidium geminatum* y *Stenotaphrum secundatum* nos hace pensar en la posibilidad de que estas dos especies presenten un modo de polinización ambófilo, con la participación ocasional de algún polinizador. Observaciones hechas a campo permitieron detectar la presencia relativamente frecuente de insectos en las espiguillas de estas especies, lo cual amerita la realización de estudios posteriores sobre biología floral en ambas.

Las orbículas de las especies de Poaceae estudiadas en este trabajo, de acuerdo a su

Tabla 1: Caracterización de las orbículas en Poaceae

TIPO	SUB-TIPO	MORFOLOGÍA DE LA ORBICULA				TAMAÑO	ULTRAESTRUCTURA	TAXA	TRIBU	SUB-FAMILIA
		Forma	Superficie	Espículas	Distribución	µm	Corazón Central			
A	*	Esférica	Espiculada	Cortas y de extremos semiagudo	+ ó - uniforme	1	Transparente a los electrones	*Glyceria multiflora* *Melica brasiliana*	MELICEAE	POOIDEAE
B	B1	Esférica	Espiculada	Largas y de extremos agudos	+ ó - uniforme	0,6–0,8	Transparente a los electrones	*Chaetotropis inberbis* *Deyeuxia viridiflavescens*	AGROSTIDEAE	
	B2	Esférica	Espiculada	Largas y de extremos agudos	grupos aislados	0,9	Transparente a los electrones	*Briza subaristata*	POEAE	
C	C1	Placa, plano-convexa	Espiculada	Largas y de extremos romos	Densa y uniforme	0,8-0,9	Transparente a los electrones	*Distichlis spicata* *Distichlis laxiflora*	ALUROPODEAE	CHLORIDOIDEAE
	C2	Placa, ambas caras planas	Espiculada	Largas y de extremos romos	Densa y uniforme	1	Transparente a los electrones	*Eleusine tristachya*	ERAGROSTIDEAE	
D	*	Esférica a sub-esférica	Espiculada	Cortas y de extremos romos	Densa y uniforme	0,9-1	Transparente a los electrones	*Paspalidium geminatum* *Stenotaphrum secundatum*	PANICEAE	PANICOIDEAE

morfología externa e interna, fueron agrupadas en 4 tipos distintos, dos de ellos con dos subtipos cada uno. Estos tipos se corresponden con las subfamilias y tribus a las que pertenecen dichas especies (ver Cuadro 1). De esta manera, podemos definir a las orbículas de la Subfamilia Pooideae como corpúsculos esféricos de superficie espiculada, las de la Subfamilia Chloridoideae como corpúsculos tipo placa con espículas en una de sus caras y los de Panicoideae como corpúsculos sub-esféricos y espiculados.

Los distintos tipos morfológicos de orbículas descriptos en este trabajo son representativos de cada una de las tribus estudiadas, y a su vez, cada una de las subfamilias presenta una morfología de estos corpúsculos bien definida. A saber, Pooideae: orbículas esféricas, Chloridoideae: orbículas tipo placa y Panicoideae: orbículas esféricas a sub-esféricas. Por esta razón, de acuerdo a lo investigado hasta el momento, se puede concluir que en la familia Poaceae, la morfología de las orbículas podría ser utilizada con fines taxonómicos.

Bibliografía

BANERJEE, U. C. 1967. Ultrastructure of the tapetal membranas in grasses. *Grana Palynol.* 7: 365-377.

BHANDARI, N. N. 1984. The microsporangium. Pages 53-111. In *Embryology of Angiosperms.* (ed. B. M. Johri). Springer-Verlag, Berlin.

BOGDAN, A. V. 1962. Grass pollination by Bees in Kenya. *Proc. Linn. Soc. Lond.* 173: 57-60.

CHRISTENSEN, J. E., H. T. HORNER & N. R. LERSTEN. 1972. Pollen wall and tapetal orbicular wall development in *Sorghum bicolor* (Gramineae). *Amer. J. Bot*. 59: 43-58.

EL-GHAZALY, G. 1989. Pollen and orbicule morphology of some *Euphorbia* species. *Grana* 28: 243-259.

EL-GHAZALY, G. & R. CHAUDHARY. 1993. Morphology and taxonomic application of orbicules (Ubisch bodies) in genus *Euphorbia*. *Grana* Suppl. 2: 26-32.

EL-GHAZALY, G. & W. A. JENSEN. 1987. Development of wheat (*Triticum aestivum*) pollen. II Histochemical differentiation of wall and Ubisch bodies during development. *Amer. J. Bot.* 74: 1396-1418.

EL-GHAZALY, G. & S. NILSSON. 1991. Development of tapetum and orbicules of *Catharantus roseus* (Apocynaceae). Pages 317-329. In *Pollen Spores* (S.Blackmore & S.H.Barnes eds.). Syst. Ass. Special Vol. 44. Clarendon Press, Oxford.

GALATI, B.G. 2003. Ubisch bodies in Angiosperms. Pages 1-21. In *Advances in Plant Reproductive Biology,* Vol. II. (A.K. Pandey & M.R. Dhakal eds.) Narendra Publishing House, Delhi.

GALATI, B.G. & L. I. STRITTMATTER. 1999. Correlation between pollen development and Ubisch bodies ontogeny in *Jacaranda mimosifolia* (Bignoniaceae). *Beitr. Biol. Pflanzen* 71: 1-12.

GALATI, B.G., M. M. GOTELLI, S. ROSENFELDT, J.P. TORRETTA & G. ZARLAVSKY. 2010. "Orbicules in Relation to the Pollination Modes". In *Pollen: Structure, Types and Effects.* (ed.: B. J. Kaiser). Chapter 13. Nova Science Publishers, Inc. N. Y. USA.

HESLOP-HARRISON, J. 1962. Origin of exine. *Nature* 195: 1609-1071.

HESLOP-HARRISON, J. 1968. Tapetal origin of pollen coat substances in *Lilium. New Phytol.* 67: 779-786.

HESS, M. 1985. Hemispheric surface processes of exine and orbicules in *Calluna* (Ericaceae). *Grana* 24: 93-98.

HESS, M. 1986. Orbicules and the ektexine are homologous sporopollenin concretions in Spermatophyta. *Plant Syst. Evol.* 153: 37-48.

HUYSMANS, S., G. EL-GHAZALY & E. SMETS. 1998. Orbicules in Angiosperms: morphology, function, distribution, and relation with tapetum types. *Bot. Rev.* 64: 240-272.

HUYSMANS, S., G. EL-GHAZALY, S. NILSSON & E. SMETS. 1997. Systematic value of tapetal orbicules: a preliminary survey of the Cinchonoideae (Rubiaceae). *Can. J. Bot.* 75: 815-826.

O'BRIEN, T.P. & M.E. MC CULLY. 1981. *The study of plant structure. Principles and selected methods.* Termarcarphi Pty. Ltd., Melbourne. Australia.

PANT, D. D., D. D. NAUTIYAL & S. K. CHATURVEDI. 1982. Insect Pollination in Some Indian Glumiflorae. *Beitr. Biol. Pflanzen* 57: 229-236.

RAJ, B. & G. EL-GHAZALY. 1987. Morphology and taxonomic application of orbicules (Ubisch bodies) in Chloanthaceae. *Pollen Spores* 29: 151-166.

ROSENFELDT, S.& B.G. GALATI. 2008. Orbicules diversity in *Oxalis* species from Buenos Aires province (Argentina). *Biocell* 32: 41-47.

ROWLEY, J. R. 1963. Ubisch body development in *Poa annua. Grana Palynol.* 4: 25-36.

ROWLEY, J. R. & B. WALLES. 1985. Cell differentiation in microsporangia of *Pinus sylvestris* III. Late pachytene. *Nord. J. Bot.* 5: 255-271.

ROWLEY, J. R. & B. WALLES. 1987. Origin and structure of Ubisch bodies in *Pinus sylvestris*. *Acta Soc. Bot. Pol.* 56: 215-227.

SCHOLS, P., C. A. FURNESS, P. WILKIN, S.

HUYSMANS & E. SMETS. 2001. Morphology of pollen and orbicules in some *Discorea* species and its systematic implications. *Bot. J. Linn. Soc.* 136: 295-311.

SODERSTROM, T. R. & C. E. CALDERÓN. 1971. Insect Pollination in Tropical Rain Forest Grasses. *Biotropica* 3: 1-16.

STEER, M. W. 1977. Differentiation of the tapetum in *Avena.* I. The cell surface. *J. Cell. Sci.* 25: 125-138.

VINCKIER, S. & E. SMETS. 2001. The potential role of orbicules as a vector of allergens. *Allergy* 56: 1129-1136.

VINCKIER, S. & E. SMETS. 2002 a. Morphology, ultrastructure and typology of orbicules in family Loganiaceae *s.l.* and related genera, in relation to systematics. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 119: 161-189.

VINCKIER, S. & E. SMETS. 2002 b. Morphological and ultrastructural diversity of orbicules in relation to evolutionary tendencies in Apocynaceae *s.l. Ann. Bot.* 90: 647-662.

VINCKIER, S. & E. SMETS. 2002 c. Systematic importance in orbicule diversity in Gentianales. *Grana* 4: 158-182.

VINCKIER, S. & E. SMETS. 2003. Morphological and ultrastructural diversity of orbicules in Gentianaceae. *Ann. Bot.* 92: 657-672.

VINCKIER, S., S. HUYSMANS & E. SMETS. 2000. Morphology and ultrastructure of orbicules in the subfamily Ixoroideae (Rubiaceae). *Rev. Palaeobot. Palynol.* 108:151-174.

Recibido el 29 de septiembre de 2011, aceptado el 23 de febrero de 2012.