

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

“Localización, Estructura e Histoquímica de nectarios
Florales en Cactaceae”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIÓLOGA
P R E S E N T A :

Odeth Aída Montero Alfaro

DIRECTOR DE TESIS: Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán

2004





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mi mamá

A mi mamá

Me mostraste que “Todo” se puede obtener
si se desea y se trabaja por ello.
y que tiene mayor valor aquello que nos
cuesta mas trabajo obtener

tu me enseñaste a ser:

Independiente, consentida y
mimada

Responsable

Fuerte y más cuando estoy
contigo

Creativa pero con tu mano de
obra

Sencilla y Generosa

Simple y complicada a la vez

Amiga principalmente la tuya
Hija

A mi hermanito:

Guapo gracias por todos esos momentos
de risas, enojos y de paz

A los retos que me haz puesto y que en
algunas veces haz ayudado a vencer.

A tus palabras de apoyo en esos momentos
y a agradable mano en mi hombro que sé
que va a estar ahí siempre que la necesite.

A mis abuelitos:

Que me han consentido y apapachado
tantas veces y que han transmitido
su gran conocimiento de vida relatando

sus experiencias.

Que me han contagiado su alegría y ganas de vivir.

Si lo sé ya llegaré a vieja, espero.

A:

Dulce, Yani, Minako, Paola, Iraís, Violeta, Elvia,
Andrés, Jaime, Sergio y Orestes.

Gracias por el gran cariño que me ofrecen y el apoyo que me brindan en todos momentos, sobretodo en los más difíciles

Atesoro todos esos grandes momentos compartidos con cada uno y los quiero muchísimo

A mi gran familia académica:

Judith, gracias por ser una gran guía y un gran ejemplo, gracias a tus consejos y palabras de apoyo me hiciste crecer.

Maguecita, gracias por todo el tiempo y atención que me dedicas y a esas largas conversaciones de las cuales he aprendido mucho. Gracias por preocuparte por mí.

Clarita, gracias por tu interés en que aprenda, en darme libertad y hacer crecer mi pensamiento científico.

A mis queridos profesores del laboratorio; Ricardo, Lulú, el Dr. Laguna, Sonia, Alicia, Reina, Margarita Ponce y Guille que tienen siempre el tiempo y la disposición de ayudar y resolver los problemas a los que me enfrenté durante el desarrollo de mi trabajo y darme la oportunidad de aprender.

A Karina, Florencia, Dulce, Edith, lluvia y Ulises, que están ahí para apoyarme y darme muy buenos consejos y palabras de aliento en cualquier momento, "Gracias".

Índice

- Resumen	1
- Introducción	3
- Antecedentes	5
- Taxonomía	5
- Anatomía de las plantas	6
- Reproducción	7
- Biología de nectarios	8
- Estructuras secretoras	9
- Nectarios	12
- Ultraestructura de tejidos nectaríferos	15
- Nectarios florales	15
- Composición química del nectar en nectarios florales	18
- Clasificación topográfica de nectarios florales	20
- Nectarios en la familia Cactaceae	21
- Objetivos	23
- Método	24
- Zona de colecta	24
- Colecta del material biológico	25
- Fijación	28
- Inclusión	28
- I. Inclusión en paraplast	28
- II. Inclusión en resinas	31
- Microscopía electrónica de barrido y transmisión	31

- Resultados	33
- <i>Pereskia lychnidiflora</i>	33
- <i>Opuntia tomentosa</i>	34
- <i>Mammillaria san-angelensis</i>	35
- Histoquímica	41
- Ultraestructura	
- Microscopía electrónica de Barrido	52
- Microscopía electrónica de Transmisión	60
- Discusión	63
- Conclusiones	68
- Literatura consultada	69

Resumen

En las plantas con flores, los nectarios son importantes debido a que tienen una actividad fundamental dentro de la biología reproductiva de la planta, atrayendo al organismo polinizador ofreciendo el néctar como recompensa.

Para su estudio diversos autores se han dado la tarea de determinar características y formar criterios para su clasificación como lo son: la posición, la función, caracteres histológicos, los patrones y tendencias dentro de la flor.

El propósito de este trabajo fue describir la posición del nectario en tres diferentes especies de la familia Cactaceae, su estructura histoquímica, además de describir las características ultraestructurales.

Se colectaron flores en anthesis de las tres especies de cactáceas y se llevaron tres diferentes procedimientos para su observación tanto en microscopía óptica (MO), microscopía electrónica de barrido (MEB) y microscopía electrónica de transmisión (MET).

Existe una diferencia de posición del nectario debido a la estructura floral, en el caso de *Pereskia lychnidiflora* el nectario se encuentra en el vértice que se forma entre el receptáculo y la base de los filamentos de las anteras fusionados, en el caso de *Opuntia tomentosa* y *Mammillaria san-angelensis* el nectario se encuentra solo en la base de los filamentos de las anteras que surgen sobre el ovario.

El tejido secretor está constituido por una epidermis y un tejido subepidérmico glandular, las células presentan un núcleo grande y citoplasma denso, además son reservorios de almidón, polisacáridos insolubles y proteínas. La descarga del néctar se lleva a cabo a través de poros en el caso de *Pereskia*

lychnidiflora y a través de estomas como en el caso de *Opuntia tomentosa* y *Mammillaria san-angelensis*.

Ultraestructuralmente las células del tejido secretor (nectario) tienen un gran número de plasmodemos, un núcleo muy grande y nucleolo evidente, además presenta una gran cantidad de ribosomas libres en el citoplasma.

Aunque no se conoce el tipo de polinización en estas especies, la presencia de néctar en una cámara nectarífera sugiere que puedan presentar algún tipo de zoofilia.

Introducción

Los nectarios son tejidos glandulares que secretan fluidos que contienen azúcares en diferente concentración. También contienen proteínas, aminoácidos, ácidos orgánicos, iones minerales, fosfatos, vitaminas y oxidasas (Fahn, 1949a; Baker, 1973; Fahn, 1979 y Weberling, 1992).

Los nectarios están en diferentes partes de las plantas, si se encuentran asociados a la flor se llaman **nectarios florales** y, si se localizan fuera de la flor, **nectarios extraflorales** (Fahn, 1988)

Existen diversas clasificaciones de los nectarios basándose en diferentes criterios. Si el criterio es su función, se les llama "**nupciales o extranupciales**" (Delpino, 1873). Si se trata de caracteres histológicos se clasifican en **mesofilares, epiteliales y tricómicos** (Weberling, 1992).

Los nectarios florales no están necesariamente asociados a una sola parte de la flor (Fahn, 1953, 1979a) pueden encontrarse en sépalos, estambres, receptáculo, ovario y estilo, y en estos órganos pueden presentarse en diferentes posiciones (Chaturvedi y Barahdur, 1985). Cuando los nectarios se asocian a las partes reproductoras existen dos patrones: los nectarios en **disco** y los **septales**. Los primeros están principalmente en los miembros de la subfamilia Magnoliopsida y los segundos en la Liliopsida (Weberling, 1992; Endress, 1994)

En la Familia Cactaceae hay nectarios florales y extraflorales (Sullender, 1998). De los últimos existe gran cantidad de información relacionada con el crecimiento de la planta como en *Opuntia versicolor* y *Opuntia phaeacantha*, que mantienen los nectarios extraflorales activos durante el crecimiento y solamente funcionan en el tejido que se encuentra en desarrollo. También hay muchos estudios de las

interacciones planta-hormigas, por ejemplo en *Ferocactus wislizenii*, donde la continua presencia de las hormigas mantiene activo el nectario y libre de organismos herbívoros (Sullender, 1998); en *Opuntia acanthocarpa* evitan que se acerquen avispas depredadoras de sus frutos (Pickett y Clark, 1979); y la interacción planta-hormiga en *Opuntia opuntiae* cuyos nectarios alimentan a colonias de hormigas que anidan en el subsuelo almacenando comida y defecando en las cercanías aportando nutrimentos al suelo (Wagner, 1997).

La mayoría de las investigaciones se abocan a la relación de los nectarios y la polinización en especies columnares como el saguaro (*Cereus giganteus*) (Sullender 1998). Sobre los nectarios florales en cactáceas no hay información de su estructura, histoquímica y posición en la flor así como características ultraestructurales, de hecho solo Boke (1963) hace una descripción muy breve de la posición del nectario en *Pereskia pititache*.

Recientes investigaciones ecológicas (Valiente-Banuet, *et al.*, 1996 y 1997b; Casas, *et al.*, 1999) han puesto de manifiesto la importancia de los nectarios florales en los procesos reproductivos de los miembros de la Familia Cactaceae, y dada la escasez de trabajos al respecto, se decidió realizar esta investigación abordando el estudio posicional, estructural e histoquímico de los nectarios de *Pereskia lychnidiflora* DeCandolle, 1828 (Subfam. *Pereskioideae*), *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck, 1826 (Subfam. *Opuntioideae*) y *Mammillaria san-angelensis* Sánchez – Mejorada, 1981 (Subfam. *Cactoideae*).

Antecedentes

Taxonomía

La familia Cactaceae es autóctona del Continente Americano, donde crecen desde Canadá hasta el Sur de Argentina ya que se han adaptado a vivir en zonas áridas y cálidas secas. En México se encuentran distribuidas a lo largo de su territorio en zonas desérticas, matorrales xerófitos y selvas bajas caducifolias. No obstante, otras especies crecen como epífitas en los árboles de las selvas altas o medianas perennifolias. También suelen hallarse en regiones frías, pobladas por bosques de pinos y encinos (Bravo-Hollis, 1997; Arias, 1997; Arreola, 1997).

En la taxonomía actual se reconocen cuatro subfamilias: *Pereskioideae*, *Maihuenioideae*, *Opuntioideae*, *Cactoideae* y esta última se divide en nueve tribus (Anderson, 2001) .

La subfamilia *Pereskioideae* está constituida por plantas arbóreas, arbustivas o trepadoras con hojas y espinas en el tronco y ramas, presentan metabolismo C₃ en las hojas y CAM en el tallo. Sus flores son diurnas y sin tubo floral. Se distribuyen desde el sur de México hasta el sur de América (Los Andes). Representa al grupo con características primitivas o ancestrales de la familia. El género representante es *Pereskia* (Leuenberger, 1986 y Anderson, 2001).

La subfamilia *Maihuenioideae* la representan los arbustos rastreros con metabolismo C₃ solamente, tienen ramas cortas de forma globosa con hojas pequeñas cilíndricas y persistentes, presenta tres espinas por areola. Sus flores

son terminales y solitarias. Su distribución se restringe a Argentina y Chile. El género representante es *Maihuenia* (Anderson, 2001).

La subfamilia *Opuntioideae* la representan plantas con diversos hábitos de vida y se caracterizan por tener ramas aplanadas o cladodios. Presentan glóquidas y espinación diversa. Tienen metabolismo CAM. Las flores están dispuestas de forma lateral, son sésiles, solitarias y diurnas. Se distribuyen en todo el continente desde

Canadá y se acercan al sur de América. Los géneros más importantes que la representan son: *Cylindropuntia*, *Grusonia*, *Opuntia*, *Pereskia*, *Tunilla* (Anderson, 2001).

La subfamilia *Cactoideae* la representan plantas de hábitos muy variables, sus ramas no se segmentan y son globosas o columnares, presentan tubérculos segmentados con zonas reproductivas diferenciadas y no diferenciadas. Presentan metabolismo CAM. Las flores son sésiles, diurnas o nocturnas y presentan tubos florales de cortos a alargados. Solo una especie, *Rhipsalis vaccifera* se encuentra en Madagascar y las demás especies se distribuyen en todo el continente americano desde Canadá hasta América del Sur. Esta subfamilia se divide en 9 tribus (Anderson, 2001).

Tribu **Calymantheae**; su género representante es *Calymanthium*; Tribu **Hylocereeae**; sus géneros más importantes son: *Epiphyllum*, *Hylocereus*, *Pseudorhipsalis*; Tribu **Cereeae**; sus géneros más importantes son: *Cereus*, *Melocactus*; Tribu **Trichocereae**; sus géneros más importantes son: *Arthocereus*, *Brachycereus*, *Echinopsis*, *Rebutia*; Tribu **Notocactae**; su género más importante es: *Austrocactus*; Tribu **Rhipsalideae**; su género más importante es: *Rhipsalis*; Tribu **Browningieae**; su género más importante es: *Browningia*; Tribu **Pachycereeae**; sus géneros más importantes son: *Acanthocereus*, *Carnegiea*, *Cephalocereus*, *Echinocereus*, *Escontria*, *Pachycereus*, *Polaskia*, *Stenocereus*; Tribu **Cacteae**; sus géneros mas importantes son: *Ariocarpus*, *Astrophytum*, *Coryphanta*, *Echinocactus*, *Ferocactus*, *Lophophora*, *Mammillaria*, *Obregonia*, *Stenocactus* y *Strombocactus*.

Anatomía de las plantas

Diversas características anatómicas describen a la familia Cactaceae, peculiaridades como su estructura crasa, la reducción de las hojas, la hipertrofia del peciolo hasta su transformación en un podario o tubérculo, la modificación de las yemas axilares hasta su conformación en areolas, la espinación diversa y el metabolismo de tipo ácido crasuláceo (CAM) hacen muy distintivas a estas plantas.

A su vez presentan formas y dimensiones muy variadas como: las "globosas", las "columnares" los "candelabros gigantes" y los "nopales"(con tallo aplanado) que van desde los 5 mm de diámetro en adelante y pueden alcanzar los 20 m de altura. A su vez presentan diferentes formas de vida como: plantas rastreras, arbustos cilíndricos y con tallos aplanados, arbóreos y epífitas. Las flores son hermafroditas, de coloración brillante que va del rojo al púrpura, excepto azul y tienen el ovario incluido en el receptáculo. El fruto es una baya jugosa (tuna, pitaya, garambullo, xoconostle o chilito) que a veces está cubierta por areolas y espinas (Sheinvar, 1995; Bravo-Hollis, 1997; Bravo-Hollis y Arreola, 1997).

Las cactáceas constituyen elementos dominantes de la vegetación, en particular las especies que habitan en zonas áridas y semi-áridas, formando bosques de altas densidades. En estos ambientes extremos, donde las cactáceas dominan el escenario, las etapas críticas en su larga vida la componen la producción de semillas, su dispersión y el establecimiento de nuevos individuos lo cual implica la germinación de la semilla en el suelo y su sobrevivencia durante los primeros años de vida. Aún cuando las flores de los cactus son hermafroditas, la mayoría de las veces son incapaces de autofecundarse y se debe a algún mecanismo de autoincompatibilidad o maduración de los órganos sexuales a diferentes tiempos. Esto requiere de la transportación de los granos de polen de la flor de una planta al gineceo de otra, por ello el papel de los animales polinizadores es crucial para explicar, al menos en parte, el éxito reproductivo de estas plantas en la naturaleza (Bravo-Hollis, 1978; Valiente-Banuet y Del Coro, 1997).

Reproducción

Un paso importante en la reproducción de las plantas es la polinización y en casi todos los casos la planta ofrece una recompensa energética por la producción de néctar y polen, además de tener un gran atractivo visual, que son recursos utilizados por un gran número de organismos (Endress, 1994; Valiente-Banuet y

Del Coro, 1997). Muchas especies de la familia Cactaceae generan flores nocturnas, tubulares, fuertes, de color blanco y olor desagradable, típicas para atraer animales como los murciélagos que, ayudados por su gran olfato, introducen su cabeza a la flor para obtener el néctar y el polen (Valiente-Banuet, *et al.*, 1996 y 1997). De entre las 70 especies de cactáceas columnares mexicanas el 69% son polinizadas por murciélagos. Otras, también noctámbulas, que representan el 6% de las cactáceas columnares en México, producen flores tubulares con corolas largas, delicadas y que producen altas cantidades de néctar y polen, por lo que son visitadas por mariposas nocturnas que poseen una lengua larga, tienen la capacidad de revolotear y de reconocer ciertos colores en la obscuridad como el blanco, además de percibir olores a grandes distancias (Otero-Arnaiz *et al.*, 2003). El 16.6% de las cactáceas columnares presentan flores polinizadas por colibríes, éste grupo reducido de cactáceas produce flores diurnas, de color rojo o de colores llamativos con corolas tubulares e inodoras, preferidas por los colibríes que son aves nectarívoras y necesitan néctar con altas concentraciones de azúcares, presentan un pico largo y afilado así como lengua larga y protáctil (Valiente-Banuet y Del Coro, 1997).

Biología de Nectarios

Para la atracción de los polinizadores y otras interacciones con organismos, que son necesarias para la supervivencia de las plantas, existen muchas sustancias que son eliminadas del citoplasma de las células de las plantas, por ejemplo el néctar, que desempeñan un papel importante en la biología del desarrollo. Por esto, es importante entender en dichas plantas, la forma en que las sustancias salen de la célula, como el ser exudadas en una vacuola fuera del protoplasto, además de definir el propósito de su eliminación. (Baker y Baker, 1983b ; Bentley, 1977 ; Blom y Clark, 1980 ; Davidson y Epstein, 1989 ; Weberling, 1992; Endress,1994)

Secreción

A principios del siglo XX las definiciones que distinguen los conceptos como excreción y secreción fueron adoptadas por los botánicos, tomando los términos de la fisiología animal. Las **excreciones** se definieron como productos que contienen catabolitos eliminados (orina) y las **secreciones** como sustancias que intervienen en una función específica (jugos gástricos). Para las plantas, la función de excreción no se lleva a cabo de la misma forma. Por ejemplo, la resina es considerada una excreción, sin embargo se sintetiza por las células de los conductos resiníferos y su tasa de producción no se relaciona al cambio metabólico general (Fahn, 1979a).

En las plantas, basándose en procesos metabólicos, se hace una distinción entre **excreción, secreción y recreción**. Se considera a la **excreción** como el proceso de eliminación de "compuestos del metabolismo secundario"; la **secreción** como la eliminación de productos de asimilación sin entrar a procesos catabólicos y, a la **recreción** como la eliminación de sales, proceso que regula el contenido de iones en las células (Frey-Wyssling, 1972).

Otras definiciones acerca de la secreción en plantas aún presentan problemas como es el caso del néctar, que cuando es secretado en la flor y atrae al polinizador, existe una interacción beneficiosa para ambos. Sin embargo, en helechos la función del néctar secretado por los nectarios extraflorales, el agente de interacción entre la planta y su medio no queda claro. Aunque las dos secreciones tuvieron origen en una glándula secretora, la función es diferente, así como su relación con el medio. La definición que se utilizará en éste trabajo para secreción es: la eliminación de todo tipo de sustancias que no son almacenadas para removilización, pero que serán el punto de partida para futuros procesos metabólicos.

Estructuras Secretoras

Las estructuras secretoras pueden originarse de diferentes tejidos meristemáticos y pueden ser clasificadas como un tipo de tejido particular solo desde el punto de vista funcional, ya que hay diferentes estructuras secretoras que pueden estar presentes en todos los órganos de las plantas o pueden estar confinados a solo algunos de ellos, incluso diferentes tipos de estructuras secretoras se presentan en diferentes partes de una misma planta. La formación de pared, cutinización, cuticularización, suberización, depósito de ceras y otros procesos de depositación en la pared celular o en vacuolas, son ejemplos de procesos de secreción que ocurren en las células de las plantas o en ciertos tejidos, como en la epidermis. También son secreciones las sustancias que salen de las células como los terpenos, que pueden ser secretados por ductos que se desarrollan de un meristemo primario o del cambium, o por tricomas que se originan de la protodermis.

La clasificación anatómica de las estructuras secretoras enfrenta dificultades. En 1918 (citado por Fahn, 1979a) se hizo una distinción entre **órganos secretores y reservorios excretores**. En los **órganos secretores** la sustancia secretada es exudada por las células secretoras directamente al exterior de la planta o en espacios intercelulares dentro del organismo. Los **órganos reservorios**, almacenan ya sea los precursores o el producto del metabolismo. Las sustancias excretadas pueden ser de considerable importancia ecológica, así como agentes de protección contra animales.

Metcafe y Chalk (1950) realizan una distinción entre varios tipos de pelos secretores: pelos glandulares, pelos urticantes, glándulas aperladas, pelos laticíferos, pelos mucilaginosos o de mucílago, glándulas de sal, glándulas de cal y estructuras secretoras internas, estas últimas se dividen en: 1) células, 2) sacos o

cavidades, 3) canales. Cada una de estas estructuras internas se subdividen de acuerdo a las sustancias que secretan.

Estructuras similares pueden producir diferentes tipos de sustancias o la misma estructura puede secretar dos tipos diferentes de compuestos. Por otra parte, compuestos similares pueden ser secretados por estructuras diferentes. Por ésto existen diferentes tipos de secreción de acuerdo al lugar donde se depositan las sustancias y del tipo de sustancias que secretan.

La eliminación de sustancias secretadas en compartimentos rodeados por membrana al interior de la membrana plasmática se conocen como **secreciones intracelulares** y la descarga de sustancias secretadas al exterior de la célula, como **secreciones extracelulares**. En el caso de la secreción extracelular, las sustancias producidas pueden acumularse entre la pared celular y la cutícula de la epidermis, además, se hace una diferencia entre **secreción endógena** y **secreción exógena**. La **secreción endógena** se caracteriza por la acumulación de sustancias en espacios intercelulares, que normalmente no salen de la planta, a excepción de sustancias volátiles que puedan difundirse. La **secreción exógena** ocurre en varios tipos de células secretoras epidérmicas, esta descarga de sustancias al exterior puede ser directa o en muchos casos hacia un espacio subcuticular. Posteriormente, se hizo una distinción adicional de las secreciones del tipo extracelular. En la **secreción endo-exógena**, se incluyen los casos en los que la sustancia secretora se elimina de manera endógena, pero con arreglos especiales que le permiten a la sustancia llegar al exterior de la planta.

Existen diferentes formas de secreción que explican la forma en que las sustancias son producidas: **Secreción holócrina** en ella las sustancias se liberan cuando las células secretoras se desintegran. **Secreción merócrina** en ésta las sustancias son eliminadas del citoplasma sin que la célula se destruya, a su vez, este tipo de secreción presenta dos patrones, donde las sustancias pasan a través de la membrana plasmática (o tonoplasto) directamente como resultado

del gradiente de concentración o por un proceso activo, y se denomina secreción écrina, y al proceso en el que las sustancias se encuentran en vesículas que se fusionan con la membrana plasmática (o tonoplasto) y son liberadas al espacio extracelular se denomina secreción granulócrina. Por lo tanto, a las células que realizan la función de secreción de sustancias del citoplasma se les llama **células secretoras** (Fahn, 1979a).

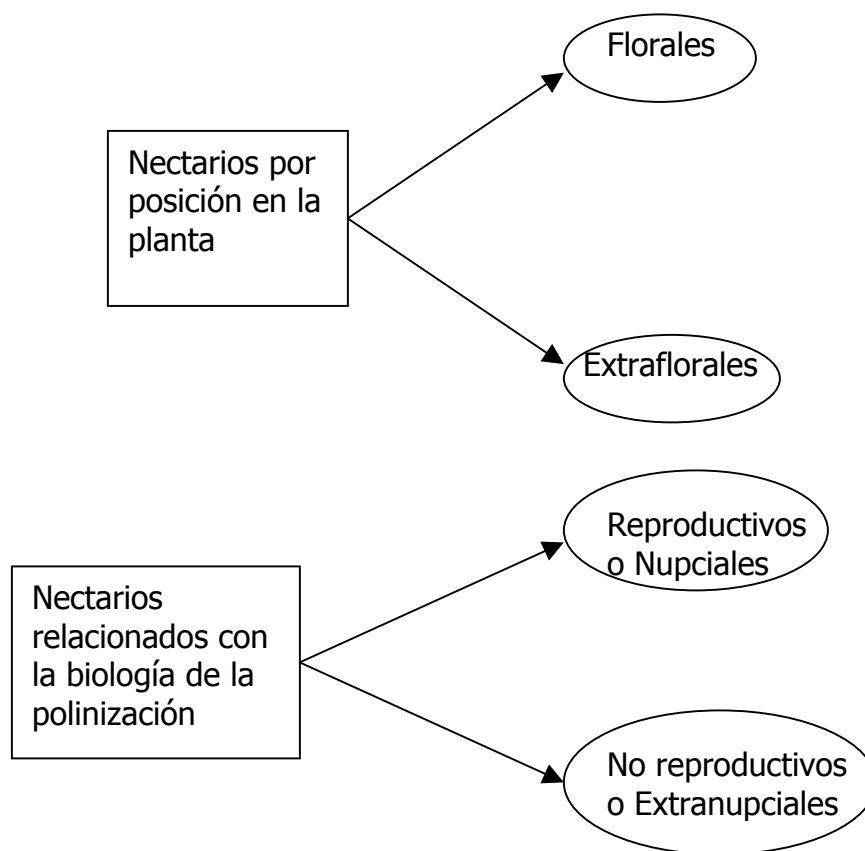
Nectarios

Los azúcares se secretan al exterior de la planta mediante de los nectarios y Helder (1958) se refiere a ellos como: "*un aspecto especial de los fenómenos generales de la pérdida de sustancias por los tejidos y células de las plantas.*"

Los nectarios se definen como tejidos glandulares que secretan fluidos que contienen agua, azúcares (sacarosa, maltosa, rafinosa, fructosa, glucosa, arabinosa) en diferentes concentraciones, además contienen proteínas, aminoácidos y otras sustancias orgánicas (Baker y Baker, 1973a ; Weberling, 1992; Endress, 1994; Bernardello *et al.*, 2000)

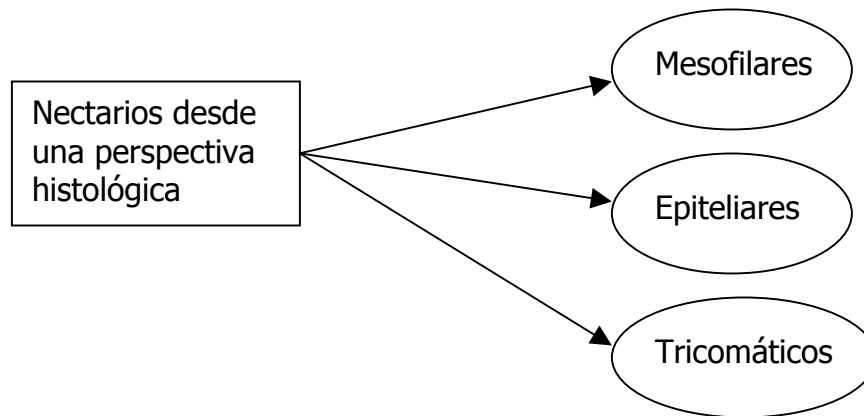
Los nectarios no están necesariamente asociados a las flores, también pueden encontrarse en ramas y hojas u otros órganos vegetativos. No solamente se encuentran en angiospermas, también se presentan en algunos helechos (*Angiopteris, Cyathea, Hamitelia, Platycerium, Pteridium*). Dentro de un contexto evolutivo, su papel principal es fisiológico ya que con éste mecanismo de secreción se eliminan sustancias poco funcionales para la planta y que a su vez con el tiempo, la adaptaron como función secundaria para diferentes actividades ecológicas (Darwin, 1877; Bonnier, 1879; Weberling, 1992).

Los nectarios por su posición en la planta son clasificados en "Florales y Extraflorales" (si están situados en órganos florales, o no) ó también en "Reproductivos y No Reproductivos" o "Nupciales o Extranupciales" si están o no relacionados con la biología de la polinización (Delpino, 1873; Fahn, 1988).



Desde una perspectiva histológica se describen tres clases de nectarios: 1) Mesofilares, en los que el tejido vascular y el parénquima asociado, son glandulares y la secreción tiene lugar en sitios llamados aberturas nectariales, que son estomas que perdieron su función de cerrarse y solamente al final de la fase secretora parecen cerrarse, son más comunes en nectarios de disco y aparentemente evolucionaron de los hidátodos. 2) Epiteliales, en los que el tejido

glandular está formado por un parénquima en empalizada rico en citoplasma con núcleos grandes e incluso presentan varias capas subepidérmicas diferenciadas en glándulas, se encuentran con mayor frecuencia en nectarios extraflorales, en nectarios septales de las flores de monocotiledóneas, en nectarios especializados y complejos de las *Asclepias*, en la superficie dorsal de los tépalos de las flores de la familia Nepenthaceae, o en la parte interna de los tépalos como en la familia Annonaceae, también son comunes en nectarios extraflorales pero nupciales de *Euphorbia*. 3) Tricomáticos, que constan de una epidermis secretora o tricomas y tejido nectarífero diferenciado debajo de éstos que pueden ocupar regiones delimitadas de capas superficiales de varios órganos de la planta, y aunque son relativamente raros son característicos de las Malvales y Dipsacales, se encuentran en la parte adaxial de los sépalos. Éstos presentan en la parte inferior del cáliz haces vasculares ricos en floema que se ramifican a lo largo del tejido secretor y finalmente la epidermis del tejido se diferencia en tricomas. También se encuentran en Periplocoideae (Asclepiadaceae) y en algunas Scrophulariaceae, Cucurbitaceae y en *Avicennia*. (Zandonella, 1967; Fahn, 1969; Endress, 1994)



Existen mezclas entre estos tipos, como la presencia del nectario del tipo 1 en las flores y nectario del tipo 2 en partes vegetativas de la misma planta como en *Passiflora*, *Thunbergia* (Acanthaceae) e *Ixonanthes* (Ixonanthaceae) también se encuentran los nectarios de tipo 1 y 2 entremezclados en el mismo lugar, como en

los nectarios de espuela de *Tropaelum majus*. También existen mezclas entre los nectarios del tipo 2 y 3 que constan de una epidermis apical, multicelular y con tricomas cortos que forman un disco, se presentan por ejemplo en el cáliz de *Thunbergia* (Acanthaceae) y en Bigoniaceae (Endress, 1994).

Al tejido que constituye el nectario se le denomina *tejido nectarífero*. Este tejido está constituido por una epidermis con o sin tricomas y un tejido parenquimatoso especializado. Éste parénquima está compuesto por células pequeñas con paredes delgadas, núcleo relativamente grande, citoplasma denso, con pequeños plastos que pueden contener almidón que es usado durante la producción del néctar. Dichas células pueden realizar fotosíntesis y ser capaces de generar y proveer materiales base para la producción del néctar o bien éste tejido puede ser de reserva y almacenar almidón principalmente.(Fahn, 1952, 1974; Bonnier, 1879; Endress, 1994; Vesprini *et al.*, 1999).

Ultraestructura de Tejidos Nectaríferos

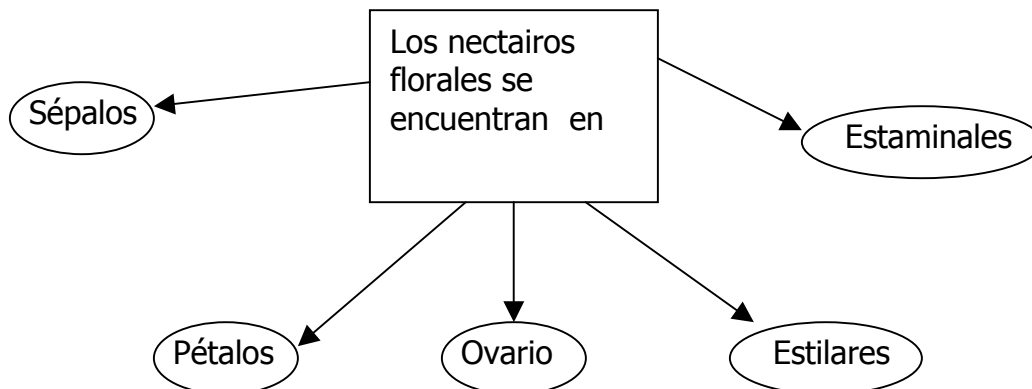
El tejido secretor en la pared externa de la epidermis del epitelio secretor está usualmente cubierto de cutícula, también tiene un número elevado de plasmodesmos que las mantienen en comunicación con las células vecinas.

En cuanto a las características ultraestructurales que poseen las células secretoras son: un volumen relativamente grande, la membrana plasmática está altamente plegada, su citoplasma es usualmente denso y rico en ribosomas y en muchos casos con estructuras multivesiculares en la pared celular y en regiones con pliegues de la membrana plasmática. Las vesículas parecen estar en contacto con la membrana plasmática y conforme se lleva a cabo el crecimiento de las células hacia el estado secretor el volumen de las vesículas incrementa, las vesículas varían en número y la mayoría contiene granos de almidón. El retículo endoplásmico puede estar muy desarrollado y es principalmente rugoso, pero en el estado secretor puede convertirse a parcialmente liso. El aparato de Golgi esta

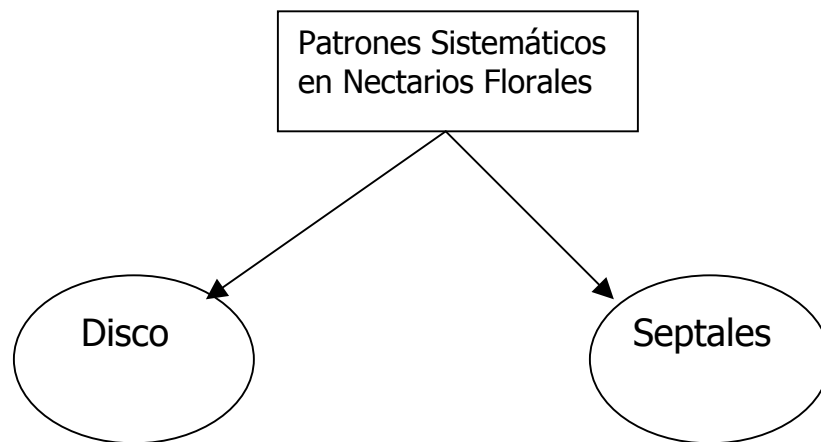
bien desarrollado y la mayoría de las mitocondrias están agregadas en complejos (Christ y Schnepf, 1985; Fahn y Rachnilevits, 1970; Fahn, 1979 a y b)

Nectarios Florales

Los nectarios florales no están necesariamente asociados a una sola parte de la flor, pueden encontrarse en sépalos, pétalos, estambres, receptáculo, ovario y estilo. Los nectarios pueden presentarse en diferentes regiones de estos órganos. En la superficie externa o interna de los sépalos (*Thunbergia*, Acanthaceae, Malvaceae), en la superficie interna de los pétalos (*Gloriosa*, Liliaceae, *Halesia*, Styracaceae, Triuridaceae), en los estambres (Lauraceae) y en el carpelo, en los que se encuentran los nectarios del ovario y se presentan en la superficie del ovario (*Limnocharis*) o hundidos en el ovario (nectarios septales de monocotiledóneas como en *Chamaedorea elegans*). Los nectarios estilares pueden presentarse en la base del estilo (como en especies de Umbelliferae y Compositae), o en el estigma (como en *Arum* y *Asclepias*). Los nectarios estaminales pueden estar presentes en los filamentos (como en *Laurus* y *Dianthus*), o en las anteras (como en algunas especies de Mimosaceae, Myrtaceae y Pedaliaceae) (Fahn, 1953, 1979 a; Chaturvedi y Bahadur, 1985; Rivas, 1995; Weberling, 1992; Endress, 1994).



Existen ciertos patrones sistemáticos entre los que destacan los nectarios de “disco”, que evolutivamente se encuentran en los niveles medio y superior en la evolución de las dicotiledóneas. Éstos se sitúan principalmente en la base de la flor entre el androceo y el gineceo, formando un anillo conspicuo como en *Phyllanthus hypospodius* (Euphorbiaceae) que en la flor masculina presenta un disco entre los pétalos y los estambres, o en *Mangifera indica* (Anacardiaceae), que presenta en las flores bisexuales un nectario de disco entre los pétalos. Otro patrón secretor que destaca es el de los nectarios “septales”, característico de las monocotiledóneas, son los más complicados, en éstos el tejido secretor se diferencia en los séptos después de la fusión de los carpelos, este tipo nectarios presenta un sistema de canales que van hacia la superficie del ovario a un cierto nivel. (Fahn, 1953, 1979 a; Rivas, 1995; Weberling, 1992, Endress, 1994).



Los nectarios pueden tener una conexión especial con el tejido vascular, principalmente con el floema, que está relativamente bien desarrollado comparado con el tejido vascular de otras estructuras florales, o bien pueden sólo asociarse al sistema vascular del órgano al que pertenecen y que ya está establecido. Para los nectarios en general, en los que la concentración de azúcares en la secreción disminuye se debe a que existe una mayor proporción de xilema, de igual manera la concentración de azúcar incrementa si existe una mayor proporción de floema. (Fahn, 1988 ; Fahn, 1979a; Weberling, 1992; Endress, 1994)

El néctar puede ser liberado del nectario directamente al exterior por diferentes vías y algunas están relacionadas con la anatomía del tejido nectarífero. Las formas más comunes de liberación del néctar son: 1) Por medio de estomas en la epidermis; 2) Por una cutícula permeable; 3) Mediante poros en la cutícula; 4) Después de la ruptura de la cutícula debido a la presión del néctar; la secreción es en general écrina o granulócrina. Algunas flores que producen una gran cantidad de néctar presentan compartimentos especiales para almacenarlo, éstas estructuras se encuentran en la base del tubo floral en flores simpétalas. La misma característica de almacén se produce en pétalos libres que presentan dobleces o curvaturas en las orillas (*Quassia amara*, Simaroubaceae, o *Malvaviscus arboreus*, Malvaceae) (Fahn, 1988 ; Fahn, 1979a; Weberling, 1992, Endress, 1994)

Composición Química del Néctar en Nectarios Florales

De acuerdo a los estudios en diferentes plantas, el néctar es una secreción comúnmente constituida por agua y azúcares (como: sacarosa, glucosa y fructosa, además de oligosacáridos, maltosa, rafinosa o melobiosa) mucílago, aminoácidos, proteínas, ácidos orgánicos (como el ácido ascórbico que actúa como antioxidante), lípidos, iones minerales, fosfatos, vitaminas, transglucosidasas, transfructosidasas, oxidasas y tirosinasas, alcaloides, sustancias fenólicas y glicósidos (Fahn, 1949; Helder, 1958; Baker y Baker, 1973 a,b y 1983 a; Endress, 1994).

De acuerdo a la relación cuantitativa entre la sacarosa y la glucosa-fructosa del néctar existen tres tipos de néctar: 1) dominante en sacarosa; 2) dominante en glucosa-fructosa; 3) igual proporción de sacarosa/glucosa-fructosa. La relación entre los diferentes azúcares es constante dentro de una especie, puede variar mucho entre especies, y mucho mas entre especies muy cercanas, se ha observado que además existe una correlación entre flores tubulares y la riqueza en sacarosa, así como la tendencia en flores con forma de copa de producir néctar rico en hexosas. (Fahn, 1949; Baker, 1983 a,b; Bahadur *et al.* 1986; Fahn, 1998)

El origen del néctar que se secreta proviene del floema. El pre-néctar se mueve a lo largo de los elementos de tubo criboso hacia las células del tejido nectarífero y su composición puede ser modificada por el tejido debido a la actividad enzimática y el proceso de reabsorción (Fahn, 1979b, 1988; Endress, 1994). Un ejemplo del cambio que ocurre en el pre-néctar es la diferencia en la composición de la savia elaborada del floema y el néctar que se secreta en los nectarios extraflorales de *Ricinus communis*, tal y como lo demostró Baker y Thorpe (1978).

El contenido y la concentración de los diversos componentes del néctar difieren y corresponden directamente a los requerimientos del polinizador, como en el caso de los insectos que utilizan principalmente a los aminoácidos del néctar como fuente de proteínas. Las características que presenta el néctar además de estar asociadas al polinizador, están asociadas con la forma de las flores, por ejemplo las flores de copa pueden presentar bajas concentraciones de azúcares, con lo que disminuye la viscosidad del néctar, ésta característica favorece a los lepidópteros principalmente y colibríes que presentan partes bucales largas y delgadas y que utilizan solo unos segundos para tomar el néctar.

Estas relaciones entre néctar, flores y polinizadores se explica con su historia evolutiva, por ejemplo: el néctar de las flores que son visitadas por colibríes (flores de colibríes) presenta altas concentraciones de sacarosa y hexosa, a diferencia del néctar de las flores visitadas por otras aves (flores de aves) que presentan los mismos componentes pero en bajas concentraciones, esto se debe a que las flores de colibríes común mente derivan de flores de abejas y tienen la característica de presentar néctar rico en sacarosa.

Debido a la gran diversidad de flores y sus asociaciones con los polinizadores, existe una gran cantidad de compuestos que se han encontrado en el néctar (Baker y Baker, 1983 b; Endress, 1994)

Nectarios Extraflorales

Los nectarios extraflorales son los más comunes en las plantas y en mayor proporción en las dicotiledóneas que en las monocotiledóneas. Zimmermann (1932, tomado de Fahn, 1979a) publicó un trabajo muy completo de nectarios extraflorales en angiospermas, y presenta una clasificación basándose en un gran número de especies.

Clasificación Topográfica de los Nectarios Florales

Basado en la tendencia acrocentripétala (de los tépalos al estilo) de la posición del nectario en la flor y considerado tanto la forma y posición de los nectarios en la flor como caracteres taxonómicos y filogenéticos se propone una clasificación topográfica general de los nectarios, clasificación que fue utilizada en el presente trabajo para clasificar los nectarios florales de las especies aquí estudiadas (Fahn, 1953; Fahn, 1979 a)

1. Nectarios perigonales

- a. En tépalos (sépalos o pétalos) (Ranunculaceae; Malvaceae; Liliaceae)
- b. En espinas (Geraniaceae)
- c. En pétalos reducidos y modificados (Ranunculaceae --- *Garidella*)

2. Nectarios estaminales

- a. En los filamentos (Papilionaceae --- *Medicago*)
- b. Anteras transformadas
- c. Apéndices conectivos

3. Nectarios en receptáculos

- a. Entre los sépalos y los pétalos (Capparidaceae --- *Capparis*;))
- b. Entre los sépalos y los estambres (Passifloraceae --- *Passiflora*)

- c. Disco entre los tépalos y el ovario
 - d. Entre la base de los estambres
 - e. Entre los estambres y el ovario (Papilionaceae --- *Phaseolus*, *Vicia*; Rosaceae --- *Prunus*; Cactaceae --- *Pereskia*)
 - f. En una cavidad tubular (*Bauhinia purpurea*)
4. Nectarios como disco alrededor de la base del ovario (Convolvulaceae --- *Ipomoea*; Labiatae --- *Mentha*, *Origanum*, *Rosmarinus*, *Salvia*;).
5. Nectarios en el ovario
- a. En toda la superficie del ovario
 - b. Carpelos transformados a nectarios
 - c. Nectario septal. Nectario localizado en el septo del ovario (el tejido glandular pertenece a la superficie de los carpelos. Los nectarios septales se encuentran restringidos a monocotiledóneas)
6. Nectarios estilares
- a. En la base del estilo (Compositae --- *Calendula*, *Senecio*.)
7. Nectarios en el estigma (Asclepiadaceae --- *Asclepias*)
8. Varios nectarios en una flor. En algunas especies, los nectarios pueden presentarse en la misma flor en más de un solo órgano.
9. nectarios de disco sobre el ovario ínfero (Myrtaceae --- *Eucalyptus*; Cucurbitaceae --- *Cucumis*, *Cucurbita*; Campanulaceae --- *Campanula*)

Nectarios en la Familia Cactaceae

En las cactáceas se presentan dos tipos de nectarios: 1) NECTARIOS EXTRAFLORALES; Varían tanto en clase como en la parte de la planta en que se encuentran, ya que se pueden localizar en diferentes partes como en hojas, ramas, pecíolos, estípulas e inclusive fuera de la flor. Son los más estudiados debido a las interacciones que presenta con diversos organismos. Este tipo de nectarios se encuentra en por lo menos 68 familias de plantas con flores y son estructuralmente muy diversos. En la familia Cactaceae. A excepción de los

sagueros (*Cereus giganteus*), los nectarios extraflorales en las cactáceas son del mismo tipo y probablemente evolucionaron más de una vez, son llamados “nectarios de espinas”, que son espinas o glóquidas modificadas que producen una yema axilar especializada como areolas. La secreción del néctar extrafloral puede ser estacional y solamente ocurre en tejido con crecimiento activo (*Opuntia phaeacantha*) o producirse todo el año (*Ferocactus wislizenii*) (Blom y Clark, 1980; Elias, 1983; Sullender, 1998).

Las cactáceas pertenecen a ambientes xéricos, sujetos a estrés hídrico gran parte del año y el evitar la pérdida de agua representa una fuerte presión de selección para las plantas, de esta manera se supone que la producción de néctar tanto floral como extrafloral es un proceso costoso y la función de producción de néctar debe ser efectiva, es decir, que no implique un gasto innecesario para la planta. Para explicar la secreción de néctar extrafloral en cactáceas se proponen 3 hipótesis:

1) Eliminar el exceso de azúcares que se acumulan cuando se conducen diversos materiales que no son azúcares a lo largo del floema y se dirigen a órganos de la planta en desarrollo, aunque Baker y Thorpe (1978) no están de acuerdo en que la secreción forme parte de un proceso fisiológico de la planta.

2) Defensa de la planta, los nectarios extraflorales atraen principalmente a hormigas que consumen insectos herbívoros y depredadores de semillas, reduciendo el daño vegetativo y disminuyendo la pérdida de semillas.

3) Aporte de nutrientes, basada en el hecho de que las colonias de hormigas atraídas por la presencia de nectarios extraflorales, acumulan materiales en sitios cercanos a sus nidos y sean alimentos y/ o productos de la defecación (Frey-Wyssling, 1955; Helder, 1958; Mound, 1962; Milburn, 1975; Bentley, 1977; Tilman, 1978; Barton, 1986; Davidson y Epstein, 1989; Del-Claro *et al.*, 1996; Joilet, 1996; Wagner, 1997)

2) NECTARIOS FLORALES. Los estudios que se relacionan con los nectarios florales fundamentalmente se refieren al papel que juegan estos en la biología de la polinización y las interacciones que ocurren entre la flor y el polinizador. En realidad poco se conoce de la posición y estructura de los nectarios florales, exceptuando una mención para la subfamilia Pereskioideae donde Boke (1963) menciona que el nectario en la flor de *Perekia pititache* "es pequeño y surge en la base interna de los filamentos de las anteras y que toma la forma de un anillo de tejido secretor alrededor de la base del gineceo". Además solamente la subfamilia Pereskioideae está descrita en la clasificación de nectarios florales que Fahn (1979 a) propone, y están clasificados como (3.e) nectarios que se encuentran en receptáculos entre los estambres y el ovario.

Objetivos

Objetivo General

Localizar y determinar la estructura y características ultraestructurales e histoquímicas de los nectarios en representantes de 3 subfamilias de la familia Cactaceae

Objetivos Particulares

- Determinar la posición y forma del nectario de las especies bajo estudio: *Pereskia lychnidiflora* DeCandolle, 1828 (Subfam. *Pereskioideae*), *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck, 1826 (Subfam. *Opuntioideae*) y *Mammillaria san-angelensis* Sánchez – Mejorada, 1981 (Subfam. *Cactoideae*).
- Comparar la estructura y morfología del nectario.
- Determinar cualitativamente su composición histoquímica.
- Estudiar la ultraestructura de las células del tejido secretor.

Método

Zona de Colecta

a) *Pereskia lychnidiflora*, DeCandolle, 1828 (Subfam. *Pereskioideae*):

Las localidades de colecta fueron 1) Guiengola, ubicada a 10 Km. de Santo Domingo Tehuantepec y 2) Playa Cangrejo, perteneciente al Morro de Mazatan, a 26 Km. de Salina Cruz, Oaxaca (Mapa 1). Se localiza en la región de Tehuantepec, Oax., entre los 15°59'- 16°48' de latitud norte y 94°04' – 95°52' de longitud oeste, que corresponde al Distrito de Tehuantepec (Mapa 1)(INEGI, 1988). Está integrada en gran parte por la porción semiárida del Istmo de Tehuantepec con elevaciones entre 0–1100 msnm y una porción montañosa de la Sierra de Oaxaca y la Sierra Madre del Sur, en donde los rangos altitudinales oscilan entre 500-1800m. Los principales ríos que la irrigan son: hacia el occidente, los ríos Grande y el Tequisistlán (Torres *et al.*, 1997).

Los climas dominantes pertenecen a los tipos Awo'' (w) ig, denominados por García (1981) como climas calientes, también están presentes los climas tropicales lluviosos (A) (C(w'') (w) (i) g, característicos de zonas montañosas. Las temperaturas oscilan entre los 28.9 y los 28.3°C. La precipitación pluvial varía de los 677.7 a 1409.0 mm, los meses más lluviosos son de junio a septiembre (INEGI,

1988). El tipo de vegetación en la zona de colecta es bosque tropical caducifolio (Rzedowski, 1978).

b) *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck, 1826 (Subfam. *Opuntioideae*):

La colecta se llevó a cabo en la zona árida del Jardín Botánico del Instituto de Biología de la UNAM, México, D. F. (Mapa2). El jardín botánico se encuentra establecido sobre un área del Pedregal de San Ángel, que tuvo su origen hace 2500 años aproximadamente, cuando el complejo volcánico del Xitle hizo erupción. La zona tiene una altitud de 2,320 msnm y el clima es templado con lluvias en verano. Sus características conforman un paisaje único dentro del valle de México (Hernández *et al.*, 1990).

c) *Mammillaria san-angelensis* Sánchez- Mejorada, 1981 (Subfam. Cactoideae)

Las flores utilizadas en esta investigación se colectaron de individuos que se encuentran dentro de la casa de cristal y la casa de sombra del Jardín Botánico del Instituto de Biología de la UNAM, México, D. F. (Mapa 2). Estas plantas se obtuvieron de plantas regeneradas a partir de cultivo de tejidos "in vitro". (Martínez y Rublo, 1989)

Colecta del material biológico

Para la colecta de botones florales de *Pereskia lychnidiflora* en estadios de preantesis y flores en antesis se realizaron dos salidas al campo: del 27 al 29 de septiembre del 2000 y del 5 al 8 de julio del 2001.

Para la colecta de los botones florales tanto de *Opuntia tomentosa*, como de *Mammillaria san-angelensis*, se realizaron varias salidas al Jardín Botánico en las primeras semanas de Febrero del 2002.

Fijación

El material biológico se fijó en dos fijadores:

- 1) FAA: las flores completas se fijaron en una mezcla de etanol 96%, formaldehído, ácido acético y agua en una proporción de 50:10:5:35, a temperatura ambiente (López *et al.*, 1998) .
- 2) Glutaraldehído- Paraformaldehído 3:1.5 + Sacarosa: Se realizó la disección de la zona en la flor en la cual se localiza el tejido secretor y se fijó en Glutaraldehído-Paraformaldehído con un amortiguador de S-Collidina + Sacarosa 0.1 M a un pH de 7.2 y a una temperatura aproximada de 3°C durante 6 horas. Posteriormente, el material se enjuagó con amortiguador de S- Collidina 0.05M con sacarosa al 0.08% y se conservó a temperatura ambiente hasta llegar al laboratorio.

Inclusión

Se utilizaron dos técnicas de inclusión:

I. Inclusión en paraplast

El material fijado previamente en FAA se clasificó en flores en pre-antesis y flores en antesis, se lavó con agua corriente para extraer el fijador, posteriormente se disectaron hasta obtener trozos de tejido de tamaño

aproximado de 1 cm. Se deshidrataron en alcohol etílico a diferentes concentraciones, 30%, 50%, 70%, 85%, 96%, dos cambios en 100% y una mezcla de alcohol-xilol en proporción 1:1 con tiempos de 3 horas por cada cambio. Para la infiltración del tejido se pasaron a una mezcla de xilol-paraplast en proporción 1:1 por 24 horas y finalmente se colocaron en paraplast puro por 24 horas a una temperatura de 56°C. Se incluyeron las muestras orientadas en moldes cúbicos y se dejaron endurecer a temperatura ambiente (Johansen, 1940).

El material ya incluido se cortó de 5 a 10µm de grosor en un microtomo de rotación. Una parte se tiñó con safranina-verde rápido en metilcelosolve, la otra parte se usó para realizar las pruebas histoquímicas.

a) Tinción

La tinción doble safranina-verde rápido aplicada a los cortes se utilizó para ubicar el tejido secretor en la estructura floral de cada especie ya que esta tinción de contraste permite distinguir estructuras facilitando su interpretación.

Los cortes que se obtuvieron del material en paraplast se desparafinaron durante 20 minutos en la estufa a 56°C, inmediatamente se pasaron por tres cambios de xilol, después por una solución de alcohol etílico 100%-xilol en proporción 1:1 y se hidrataron en alcoholes graduales 100% y 96% (durante tres minutos cada uno). Posteriormente los cortes se sumergieron en safranina al 1% en metilcelosolve en alcohol 96% por 24 horas. Después de las 24 horas en safranina, cada portaobjetos con los cortes se lavó con agua corriente para eliminar el exceso del colorante. El tejido se libera del exceso de safranina y se deshidrata simultáneamente aplicando alcohol 96% mas ácido pícrico y después se lava con alcohol 96% mas amoniaco, esto detiene la acción del ácido pícrico. A continuación se deshidrata en alcohol absoluto para después contrastar con verde rápido en metilcelosolve, se lava con aceite de clavo con una mezcla de alcohol

absoluto y xilol, por último se aclara más lavándose con xilol, finalmente los cubreobjetos se montan con bálsamo de Canadá ó Resina (López *et al.*, 1998)

b) Pruebas histoquímicas

Las pruebas histoquímicas se aplicaron para identificar y localizar sustancias específicas dentro de las células del tejido secretor.

Para localizar **proteínas** se aplicó la prueba de **azul negro de naftol OH 96% (ANN)**: los portaobjetos con los cortes se desparafinaron durante 20 minutos en la estufa a 56°C y se hidrataron hasta alcohol 96%, se les aplicó azul negro de naftol por 5 minutos y se enjuagó con alcohol 96%, se deshidrató hasta xilol y se montó en bálsamo de Canadá. Las proteínas tiñen de azul (López *et al.*, 1998)

Para localizar **polisacáridos insolubles** se aplicó la prueba de **ácido periódico-reactivo de Schiff (APS)**: los portaobjetos con los cortes se desparafinaron durante 20 minutos en la estufa a 56°C y se hidrataron hasta agua, se les aplicó ácido periódico durante 15 minutos y se lavó con agua, después se aplicó reactivo de Schiff durante 15 minutos y se lavó con agua y ácido acético 2% durante 1 minuto y se enjuagó con agua, finalmente se deshidrató hasta xilol y se montaron en bálsamo de Canadá. Se obtienen de color magenta los polisacáridos insolubles (López *et al.*, 1998).

Para localizar **lípidos** se aplicó la prueba de **rojo "O" de aceite**: los portaobjetos con los cortes se desparafinaron durante 20 minutos en la estufa a 56°C y se hidrataron hasta alcohol 50%, se aplicó rojo "O" de aceite durante 30 minutos, se enjuagó con alcohol 50%, después con alcohol 30% y con agua, finalmente se montaron en jalea glicerizada. Se obtiene de color naranja rojizo o rojo los lípidos (Curtis, 1986).

Para localizar **almidón** se aplicó la prueba de **Lugol**: Los portaobjetos con los cortes se desparafinaron durante 20 minutos en la estufa a 56°C y se hidrataron hasta agua, se les aplicaron unas gotas de lugol y se observó en fresco. Se obtiene de color morado o negro los granos de almidón (Johansen, 1940).

Para localizar **celulosa y hemicelulosa** se aplicó la prueba de **cloroyoduro de zinc + yodo**: los portaobjetos con los cortes se desparafinaron durante 20 minutos en la estufa a 56°C y se hidrataron hasta agua, se les aplicaron unas gotas de cloroyoduro de zinc + yodo y se observó en fresco. Se obtiene de color azul la celulosa y hemicelulosa, de color amarillo o naranja la cutina y suberina y de color morado o negro el almidón (Jensen, 1962).

II. Inclusión en resinas

El material fijado en Glutaraldehído- Paraformaldehído 3%-1.5% + sacarosa, se enjuagó con amortiguador de collidina 0.05M y se transportó al laboratorio, se deshidrató en alcoholes graduales: 30%, 50%, 70%, 85%, 96% y 3 cambios de alcohol 100% durante 20 minutos cada uno, se pasaron por un tren de inclusión a LR White 25%, 50%, 70% y tres veces en 100% y se dejó en el último cambio de 100% durante 24 horas, para finalmente ser incluido en moldes pequeños cerrados herméticamente y se dejó que polimerizara en la estufa a 56°C durante 3 horas. Los bloques se cortaron para su exploración en un Ultramicrotomo Leica UltracutR y se tiñe con toluidina al 0.5%.

Microscopía Electrónica de Transmisión (MET)

El material fijado en Glutaraldehído-Paraformaldehído 3%-1.5% + sacarosa, siguen el procedimiento de inclusión en resinas, después se exploraron y retallaron

las caras de corte a fin de dejar solamente la parte del tejido secretor, estas caras se cortaron de entre 65 y 90 nm de grosor en un ultramicrotomo Leica UltracutR y se recogieron con rejillas de cobre montadas con una membrana de formvar 0.3%.

Estos cortes se contrastaron con citrato de plomo y acetato de uranilo para su observación al MET (Vázquez-Nin y Echeverría, 2000) .

Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Del material fijado en FAA se realizó una disección con navajas nuevas de doble filo, que solo deje el tejido específico. Se deshidrató el material en alcoholes graduales 30%, 50%, 70%, 85%, 96% y 3 cambios de alcohol 100% durante 2 horas cada uno, se desecan en desecador de punto crítico, se montaron y orientaron en portamuestras de cobre con una cinta de carbón, finalmente se recubren con oro para su observación al MEB.

FOTOMICROSCOPIA

Una vez seleccionados los cortes, se toman micrografías para ilustrar las estructuras descritas.

Resultados

Pereskia lychnidiflora DeCandolle, 1828 (Subfam. *Pereskioideae*)

Morfología Floral y Ubicación del Nectario

Las flores de *P. lychnidiflora* son bisexuales, los verticilos no sexuales presentan sepaloides y petaloides de color anaranjado; un gran número de anteras que se fusionan en la base para formar la cámara nectarífera. El ovario es sincárpico y súpero (Jiménez, 2002), los estilos son cortos y se encuentran fusionados y presenta varios lóbulos estigmáticos (Figura 1, a y d)

Los filamentos de las anteras emergen a partir de la zona donde el receptáculo se distingue del ovario (Figura 1,d y g) y es ahí donde se encuentra localizado el tejido secretor, en el vértice que se forma entre el receptáculo y la base de los filamentos de las anteras que se fusionan para formar una cámara que almacena el néctar (Figura 1,g). Este tejido se extiende alrededor del ovario formando un cinturón o anillo secretor. (Figura 1,j)

De acuerdo a la clasificación topográfica de nectarios florales propuesta por Fahn (1979a) los nectarios de *P. lychnidiflora* y probablemente de la subfamilia *Pereskioideae* se clasifican como "3e", es decir, nectarios en receptáculo entre los estambres y el ovario (Figura 1,g y 2,a y b)

Estructura del Nectario

El tejido secretor que forma al nectario está constituido por una epidermis bien diferenciada (Figura 2,f) y un tejido subepidérmico que se extiende hasta encontrarse cerca del tejido vascular (Figura 1,g y 2,a). La epidermis está constituida por una capa de células cúbicas, con cutícula gruesa (Figura 2,f) y el tejido subepidérmico está formado por células parenquimáticas sin arreglo específico (Figura 2, d, e). Las células del tejido secretor son pequeñas con núcleo grande y nucleolo evidente, el citoplasma denso y pared primaria delgada.(Figura 2, f).

La descarga del néctar hacia la cámara nectarífera (Figura 2, d) se lleva a cabo a partir del órgano secretor y es de manera extracelular y exógena, es decir, que la descarga del néctar es directa hacia el exterior del tejido y se lleva a cabo a través de poros que se forman en las uniones entre células y de estomas en la epidermis (Figura 8, e)

Opuntia tomentosa Salm-Dyck (1826) Subfamilia Opuntioideae

Morfología Floral y Ubicación del Nectario

Las flores de *Opuntia tomentosa* son bisexuales, los verticilos no sexuales presentan tépalos de color anaranjado; hay un gran número de anteras que se fusionan en la parte basal, para formar la cámara nectarífera. El ovario es sincárpico e ínfero, los estilos son largos y están fusionados y presenta varios lóbulos estigmáticos (Figura 1, b y e)

Los filamentos de las anteras sobresalen al mismo nivel del estilo a partir del receptáculo y el espacio que se forma entre el estilo y los filamentos de las anteras forman la cámara nectarífera (Figura 1, e y h). El tejido secretor se diferencia en la base de los filamentos fusionados sin tocar el vértice de unión entre el estilo y la base de los filamentos fusionados (Figura 2, b). El tejido secretor forma un anillo continuo alrededor del estilo sobre el ovario (Figura 1, k)

De acuerdo a la clasificación topográfica de nectarios florales propuesta por Fahn (1979a) el nectario de *O. Tomentosa* se clasificaría como: "2 a" que corresponde a nectarios estaminales en los filamentos.(Figura 2, b)

Estructura del Nectario

El tejido secretor que conforma al nectario tiene una epidermis diferenciada (Figura 2, h) y un tejido subepidérmico que se encuentra rodeando al tejido vascular (Figura 1, k). La epidermis está constituida por una capa de células cúbicas, con cutícula gruesa y el tejido subepidérmico está formado por células parenquimáticas sin arreglo específico, (Figura 2, g y h). Las células del tejido secretor son pequeñas y presentan núcleo grande con nucleolo evidente y el citoplasma denso, presentan pared primaria solamente (Figura 2, i'). Una característica importante de éste tejido es la presencia de un gran número cristales de oxalato de calcio en forma de drusas en el tejido secretor (Figura 2g, i).

La descarga del néctar hacia la cámara nectarífera (Figura 2, b) se lleva a cabo a partir del órgano secretor y es de manera extracelular y exógena, es decir, que

la descarga del néctar es directa hacia el exterior del tejido y se lleva a cabo a través de estomas que se encuentran sobre la epidermis del tejido secretor (Figura 2,h) y que están en contacto directo con la cámara nectarífera (figura 9 e, f, g)

Mammillaria san-angelensis Sánchez-Mejorada 1981 (Subfamilia Cactoideae, Tribu Cacteeae)

Morfología Floral y Ubicación del Nectario

Las flores de *Mammillaria san-angelensis* son hermafroditas y son muy pequeñas (entre 2.2 y 2.5 cm), presentan varios tépalos de color rosa y un gran número de anteras que se fusionan en la base para formar la cámara nectarífera. El ovario es sincárpico e ínfero, presenta varios lóbulos estigmáticos y los estilos son largos y están fusionados. (Figura 1, c y f)

Los filamentos de las anteras que están fusionados en la base y surgen sobre el receptáculo a la altura del estilo forman un fondo cóncavo, al espacio que se forma entre el estilo y los filamentos de las anteras se le llama cámara nectarífera (Figura 1, f, i). El tejido secretor se diferencia en la base de los filamentos fusionados sin llegar a la zona del vértice con el estilo (Figura 2, c) y forma un anillo continuo alrededor del estilo. (Figura 1,l)

De acuerdo a la clasificación topográfica de nectarios florales propuesta por Fahn (1979a) el nectario de *M. san-angelensis* se clasificaría como: "2 a" que corresponde a nectarios estaminales en los filamentos (figura 2,c).

Estructura del Nectario

El tejido secretor que conforma al nectario está constituido por una epidermis diferenciada (Figura 2,k y l) y un tejido subepidérmico que se encuentra rodeando al tejido vascular (Figura 2, j y k). La epidermis está constituida por una capa de células cúbicas, con cutícula gruesa y el tejido subepidérmico está formado por células sin arreglo específico (Figura 2,k). Las células del tejido secretor son de

pequeño tamaño y presentan núcleos grandes con nucleolos evidentes y el citoplasma denso. Presentan pared primaria solamente. (Figura 2,k)

La descarga del néctar hacia la cámara nectarífera (Figura 2, c) se produce a partir del órgano secretor y es de manera extracelular y exógena, es decir, que la liberación del néctar es directa hacia el exterior del tejido y se lleva a cabo mediante estomas que se encuentran en los extremos de las proyecciones del tejido (Figuras 7, l y 10, b, c, d)

Histoquímica

Con la prueba de azul negro de naftol se encontró que solo el tejido secretor tiene proteínas en el contenido citoplasmático (Figura 3,a, d, g), probablemente debido a la presencia de un alto contenido de ribosomas, se distinguen perfectamente el núcleo y nucleolo (Figura 3, b, e, h), además de algunos plastos contienen proteínas (Figura 3, c, f, i).

Con la prueba de APS se detectaron polisacáridos insolubles en la pared celular de todo el tejido (Figura 4, a, d, g). Pero la diferencia radia que en el tejido secretor también se tiñó el contenido citoplasmático (Figura 4, b, e y h) además de presentar amiloplastos (Figura 4, c, f, i, i').

La prueba de cloroyoduro de zinc indica la presencia de celulosa y hemicelulosa en la pared primaria de las células tanto del tejido secretor como el tejido no secretor, que son mas gruesas (Figura 5,a, b, d, g). También marca la presencia de cutina y suberina principalmente en las células del tejido secretor (Figura 5, b, f, i, i') y en las paredes secundarias de algunas células. Se logran distinguir

amiloplastos bien definidos en las células del tejido secretor principalmente (Figura 5, c, e, e', h).

La prueba de rojo "o" de aceite indica la presencia de lípidos en la cutícula de la epidermis (Figura 6, b, d, f), además en el contenido citoplasmático de las células del tejido secretor (Figura 6, a, c, c', d, e) donde también se distinguen plastos que contienen lípidos (Figura 6, b, d).

El lugol dio como resultado una marcada diferencia entre el tejido secretor y el no secretor (Figura 7, a, d, g) ya que tiñe de color café negrozco el citoplasma de las células del tejido secretor (Figura 7, b, e, e', h) y otras zonas en forma de puntos completamente negros en el citoplasma (Figura 7, c, f, i). Para el tejido no secretor solo tiñe algunos puntos negros (Figura 7, a, d, g).

Ultraestructura de las células secretoras

Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Pereskia lychnidiflora DeCandolle, 1828 Subfamilia Pereskioideae

El nectario se divide en dos estratos diferentes (Figura 8 a y b); el vértice secretor donde las células presentan un mayor volumen y la base de los filamentos de las anteras donde las células tienen un menor volumen y apariencia rugosa (Figura 8, b), en este último estrato se encuentran los estomas (Figura 8, c) y en la unión de tres células hay un espacio que semeja un poro (Figura 8, d, e).

Opuntia tomentosa Salm-Dyck, 1826 Subfamilia Opuntioideae

Las células epidérmicas del nectario tienen un arreglo poligonal (Figura 9, b) y es en estas estructuras donde se observaron estomas completamente abiertos (Figura 9, a, e, f). También, se observan cristales en las aperturas de los estomas indicando que es esta la forma de secreción del néctar hacia la cámara nectarífera (Figura 9, e, f, g). Al finalizar la cámara nectarífera, los filamentos de las anteras ya no se encuentran fusionados, presentan unas proyecciones de la cutícula con apariencia de picos (Figura 9, c, d).

Mammillaria san-angelensis Sánchez- Mejorada, 1981 Subfamilia Cactoideae, Tribu Cacteeae.

La epidermis del nectario presenta células alargadas y acojinadas (Figura 10, d). También se observaron proyecciones del tejido y en la parte apical estomas completamente abiertos (Figura 10, b, c, d, e). Estos se encuentran distribuidos a lo largo del tejido que se formó a partir de la fusión de la base de los filamentos de las anteras (Figura 10, a).

Microscopía Electrónica de Transmisión (MET)

Se describieron las células del tejido secretor de una de las tres especies estudiadas, pues en general no se encontraron diferencias ultraestructurales entre ellas.

Las células del tejido secretor (nectario) de las tres especies (*P. lychnidiflora*, *O. tomentosa*, *M. san-angelensis*) presentan un gran número de plasmodesmos, pared primaria evidente y una gran cantidad de ribosomas libres en el citoplasma (Figura 11, a), el retículo endoplásmico rugoso se encuentra muy desarrollado y en ciertas zonas está asociado a la membrana celular, en otros casos este retículo

se agrupa formando cisternas que adoptan la función del aparato de Golgi (Figura 11,b, c). Tienen vacuolas muy grandes que probablemente contienen almidón y otras vacuolas de menor tamaño, pero con mayor densidad que están orientadas hacia la zona donde se encuentra el núcleo (Figura 11, a). El núcleo es de gran tamaño en proporción al tamaño de la célula, presenta cromatina en la periferia pero en general es laxa y nucleolo que es muy evidente (Figura 11, a).

Discusión

Para la familia Cactaceae existe un gran número de trabajos que se enfocan desde un punto de vista ecológico a las interacciones entre los nectarios, tanto florales como extraflorales, con diversos organismos. Como la mayoría de los nectarios extraflorales atraen insectos, que a cambio del néctar, proveen protección a la planta en contra de depredadores (Blom y Clark, 1980; Elias, 1983; Sullender, 1998)

A los nectarios florales se les considera importantes como un medio de atracción para organismos polinizadores, y la posición del nectario dentro de la flor es importante ya que evolutivamente se han demostrado patrones de interacción especializada que se llevan a cabo con organismos que asocian el área de secreción y almacén del néctar con la posición de las estructuras reproductivas que favorecen la recolección y depositación del polen (Zandonella; 1967; Delpino, 1973; Fahn, 1969; Fahn, 1988, Weberling, 1992; Endress, 1994)

Sin embargo a la información de las características anatómicas y estructurales de los nectarios florales en la familia es muy reducida, solo Boke (1936) realiza una breve descripción de la posición del nectario en la flor de *Pereskia pititache*. Otra referencia a la familia Cactaceae y en particular a la subfamilia Pereskioideae de la cual determinan la posición del nectario está en la propuesta de Fahn (1979a) de la clasificación topográfica de los nectarios florales.

Los nectarios estudiados en este trabajo de acuerdo a su localización, y por lo descrito por Delpino (1973) y por Fahn (1988). Son "florales". También por la ubicación del nectario en la flor a la presencia de néctar al momento de la colecta

de flores en antesis así como a la presencia de pequeños organismos dentro de la copa floral, se asume que los nectarios son importantes en la biología de la polinización de la planta y por lo tanto son "nupciales".

Existen diferencias respecto al área en que está distribuido el tejido secretor y que está directamente relacionado con las características anatómicas de cada flor. El nectario se encuentra en la base de los filamentos de las anteras que se fusionan para formar una cámara de almacén de néctar, pero la posición del ovario en la flor es importante ya que influye en el área que ocupa el nectario separando en dos grupos a estas tres especies. El primero está constituido por las flores de *P. lychnidiflora* que presenta ovario súpero (Jiménez, 2000), característica que hace que se forme un vértice entre la base del filamento de las anteras y el receptáculo, área que contribuye a la diferenciación del tejido secretor de la glándula. El segundo grupo está constituido por las flores de *O. tomentosa* y *M. san-angelensis* que presentan ovario ínfero y la glándula secretora se encuentra solo en la base de los filamentos fusionados.

Estas características anatómicas de la flor se tienen como criterios para la clasificación de los nectarios florales (Fahn 1953 y 1979a), además de proporcionar caracteres taxonómicos y evolutivos donde se considera la tendencia acrocentripétala de estas estructuras.

De las diferencias que ya se han mencionado entre las flores de *P. lychnidiflora* y las flores de *O. tomentosa* y *M. san-angelensis*, se incluye una más, la clasificación de los nectarios florales y a su vez el conflicto de la clasificación entre ellas.

En la propuesta de Fahn (1979a) para la clasificación topográfica de los nectarios florales incluyó a *Pereskia* como "3e" que son nectarios en el receptáculo entre los estambres y el ovario. Este trabajo corrobora dicha clasificación ya que el tejido secretor se encuentra entre el androceo y el gineceo,

y el área que abarca el tejido secretor va desde la base del filamento de las anteras fusionadas hasta el vértice que forma con el receptáculo, y fue este último el carácter definitivo para su clasificación.

El nectario de *O. tomentosa* no se encuentra descrito en la literatura, y con la información que se obtuvo en este trabajo se clasifica al nectario como estaminal ya que sólo el tejido de la base de los filamentos fusionados (connado) diferencia como tejido secretor. Tomando en cuenta la clasificación de nectarios propuesta por Fahn (1979a) el nectario que presentan las flores de *O. tomentosa* se cataloga como "2a" es decir nectarios estaminales en los filamentos.

Tampoco el nectario de *M. san-angelensis* se encuentra descrito en la literatura y las flores presentan las mismas características anatómicas que *O. tomentosa*, la única diferencia es el menor tamaño de la flor entre una y otra. Pero el nectario se encuentra en la base de los filamentos de las anteras y sólo esta estructura se relaciona con el tejido secretor, es así que el nectario de *M. san-angelensis* al igual que el de *O. tomentosa* se clasifica como "2a" de acuerdo a Fahn (1979a).

Para las flores de las especies aquí estudiadas el nectario se encuentra entre el androceo y el gineceo formando un anillo conspicuo, este patrón denominado "nectarios de disco" es un patrón sistemático que se encuentra en niveles medio y superior en la evolución de las dicotiledóneas (Fahn, 1953, 1979a; Chaturvedi y Bahadur, 1985; Weberling, 1992).

Otra característica que se considera importante es la relación entre el tejido secretor y los haces vasculares del órgano al que pertenecen, que además y está directamente relacionada con la concentración de azúcares del néctar (Fahn, 1979a; Fahn, 1988 ; Weberling, 1992; Endress, 1994). La cercanía del haz vascular al tejido secretor favorece el suministro de sustancias base para la síntesis del

néctar, convirtiendo de alguna manera a los haces vasculares en parte del tejido que conforma la glándula.

Debido a la anatomía floral de *P. lychnidiflora* los haces vasculares solo pasan cerca del tejido secretor sin estar en contacto directo con él. A diferencia de *O. tomentosa* y *M. san-angelensis* en los cuales el tejido secretor se extiende hasta rodear a los haces vasculares además de presentar una mayor cantidad de floema, esto indica que la concentración de azúcares se incrementa (Fahn, 1979a; Fahn, 1988 ; Weberling, 1992; Endress, 1994)

Desde el punto de vista histológico, aparentemente no hay diferencias en la estructura del tejido de las tres especies ya que presentan las mismas características citológicas como se reporta en la literatura para los tejidos nectaríferos (Bonnier, 1879; Fahn, 1952,1974; Vesprini *et. al.*, 1999; Endress, 1994) .

De acuerdo a las características descritas por Zandonella (1967), Fahn (1969) y Endress (1994). *P. lychnidiflora*, presenta características de los "nectarios mesofilares" como son la cercanía del tejido vascular al parénquima asociado que se comporta como glándula y, aunque la secreción toma lugar principalmente por poros en la epidermis también presenta estomas. Además de ser un nectario de "disco" que parece dominar en este tipo de tejidos.

O. tomentosa y *M. san-angelensis* también presentan las características de los "nectarios mesofilares" como el tejido parenquimático y la forma de "disco" que adquiere el nectario, pero a diferencia de *P.lychnidiflora* la secreción de los nectarios de estas dos especies tiene lugar principalmente por estomas, característica también de "nectarios mesofilares".

El tejido secretor de las tres especies no presenta diferencias significativas en las características histoquímicas, este tejido tiene una alta producción de proteínas

ya que sus núcleos y nucleolos están muy activos, también presenta almacenado en su citoplasma polisacáridos insolubles, amiloplastos y plastos que contienen lípidos y proteínas.

Existen diferencias entre las especies en las estructuras para liberar el néctar hacia la cámara nectarífera. Por ejemplo, *P. lychnidiflora* presenta estomas pero en muy baja densidad a lo largo del tejido secretor al contrario de la cantidad de poros en el tejido que se encuentran entre las uniones de las células, por lo tanto la densidad es mucho mayor y es mas factible que esta última sea la forma en que el néctar deja el tejido. Por el contrario *O. tomentosa* presenta una gran cantidad de estomas que se encuentran completamente abiertos lo cual indica que esta es la forma en que se libera el néctar de igual manera que *M. san-angelensis*.

Conclusiones

Los nectarios de las cactáceas estudiadas son florales y por su posición y observaciones en el campo también son nupciales.

Las características antómicas de la flor influyen directamente sobre la posición del nectario y estas diferencias en la posición del nectario hacen que su clasificación sea diferente: como "3e" y las otras dos especies (*O. tomentosa* y *M. san-angelensis*) como "2a" de acuerdo a Fahn (1979a) .

Los nectarios de las especies estudiadas corresponden a nectarios de "disco". Asociado a este tipo de patrón de nectarios el tejido presenta las características histológicas de los "nectarios mesofilares" .

La relación de los haces vasculares con el tejido secretor, es un tanto lejana en *P. lychnidiflora* y muy cercana en los casos de *O. tomentosa* y *M. san-angelensis*.

La histoquímica del tejido de las 3 especies presenta proteínas, polisacáridos insolubles, amiloplastos y lípidos en el citoplasma

De acuerdo con la forma en que sale el néctar del tejido secretor hacia la luz de la cámara nectarífera se encuentran diferencias significativas entre las tres especies: en *P. lychnidiflora* los poros están en mayor cantidad y hay muy pocos estomas; en *O. tomentosa* los estomas se encuentran en una densidad muy alta y completamente abiertos, y en *M. san-angelensis* hay presencia de estomas abiertos en el ápice de proyecciones

La ultraestructura de las células secretoras de 3 miembros de la familia Cactaceae se presenta por primera vez en este trabajo, concuerda en las tres especies estudiadas y con la observada para otras especies.

Literatura Consultada

1. Arias, S. 1997. Distribución general en: "Suculentas Mexicanas: Cactáceas". CONABIO, SEMARNAP, UNAM, CVS. México. Pp. 17-26
2. Arreola, H. 1997. Formas de vida y características morfológicas en: "Suculentas Mexicanas: Cactáceas". CONABIO, SEMARNAP, UNAM, CVS. México. Pp. 27-36
3. Anderson, F. 2001. "The Cactus Family" Timber Press Inc. Portland, Oregon. Pp 776
4. Baker H. y I. Baker. 1973. "Amino-acids in nectar and their evolutionary significance." *Nature*, Londres. **241**: 543-545.
5. Baker, H.B. y I. Baker. 1973 b. "Some authecological aspects of the evolution of nectar-producing flowers, particularly amino acids production in nectar"; Taxonomy and Ecology (V.H Heywood ed.) Academic Press, Londres. pp. 243-264.
6. Baker, D.A., J.L. Thorpe. 1978. "A study of the extrafloral nectarines of *Ricinus communis*". *New Phytologist* **81**: 129-137.
7. Baker, D. A., Hall, J.L. y Throp, J. R. 1978. "A study of the extrafloral nectarines of *Ricinus communis*" *New Phytologist.*, **81**: 129-137.
8. Baker H. y I. Baker. 1983 a. "A brief historical review of the chemistry of floral nectar"; Biology of Nectarines (ed. Bentley, B. and Elias, T.), Columbia University Press. New York. Pp. 126-152
9. Baker H. y I. Baker. 1983 b. "Floral nectar sugars constituents in relation to pollinator type": Nectar biology (ed. Bahadur, B.), 1998 Chetna Printers, Maujpur, Delhi. Pp. 21-39
10. Bahadur, B., A. Chaturvedi y N.R., Swamy. 1986. "Nectar types in Indian plants" *Proceedings of the Indian National Science Academy. (Plant Science)*. **96**. 41-48.
11. Barton, A.M. 1986. "Spatial variation in the effect of ants on an extrafloral nectary plant". *Ecology* **67**: 495-504.

12. Bentley, B.L. 1977. "Extrafloral nectarines and protection by pugnacious bodyguards". Annual Review of Ecology and Systematics. **8**: 408-427.
13. Bernardello, G., L. Galetto y G. Anderson. 2000. "Floral nectary structure and nectar chemical composition of some species from Robinson Crusoe Island (Chile), Canada Journal of Botany **78**: 862-872.
14. Blom, P. E. and W. H. Clark. 1980. "Observations of ants (Hymenoptera: Formicidae) visiting extrafloral nectarines of the barrel cactus, *Ferocactus gracilis* Gates (Cactaceae), in Baja California, México. Southwestern Naturalist (**25**) 181-196.
15. Boke, N. H. 1963. "Anatomy and development of the flower and fruit of *Pereskia pititache*" American Journal of Botany. **50**(8): 843-858.
16. Bonnier, G. 1879. "Les Nectaries", Theses en la Faculte du la Science du Paris.
17. Bravo-Hollis, H. 1978. "Las Cactáceas de México" Vol I. UNAM, México.
18. Bravo-Hollis H. y L. Sheinvar. 1995. "El Interesante Mundo de las Cactáceas" Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y FCE. México.
19. Bravo-Hollis H. 1997. Introducción En: "Suculentas Mexicanas: Cactáceas". México. CONABIO, SEMARNAP, UNAM, CVS. Pp .10-12.
20. Casas, A., A. Valiente-Banuet, A. Rojas-Martínez y P. Dávila, 1999. "Reproductive Biology and The Process of Domestication of the Columnar Cactus *Stenocercus stellatus* in Central México" American Journal of Botany. **86**(4):534-542
21. Chaturvedi, A. y B. Bahadur, 1985. "Gland crested anthers in some angiosperms" Journal Swamy Botany. Cl **2**: 79-86.
22. Christ, P., E. Schnepf, 1985. "The nectaries of *Cynanchum vincetoxicum* (Asclepiadaceae) Israel Journal of Botany, **34**: 79-90
23. Curtis P. J. 1986. "Microtecnica vegetal". Trillas. México. D.F.
24. Darwin, Fr. 1877. "On the néctar-glands of the common brakefern" Journal of Linnean Society of Botany. **15**: 407-409.

25. Davidson, D.W. y W.W. Epstein. 1989. "Epiphytic associations with ants"; Vascular Plants as Epiphytes (ed. U. Luttge), Springer-Verlag, Berlin, pp 200-233.
26. Del-Claro, K., V. Berto y R. Wilson. 1996. "Effect of herbivore deterrence by ants on the fruit set of and extrafloral nectary plant, *Qualea multiflora* (Vochysiaceae). Journal of Tropical Ecology. **12**: 887-892.
27. Delpino, F. 1868-75. "Ulteriori osservazioni sulla dicogamia nel regno vegetale. I y II. Atti della Societa Italiana di Scienze Naturali. XI. XII
28. Elias, T.S., 1983. "Extrafloral nectaries: their structure and distribution"; The Biology of Nectaries (eds. B. L. Bentley and T. S. Elias), Columbia University Press, New York, pp. 174-203.
29. Endress, P. 1994. "Diversity and evolutionary biology of tropical flowers: Special differentiations associated with pollinator attraction" Cambridge University Press, Gran Bretaña, 148-188 p.
30. Fahn, A. 1949. "Studies in the ecology of nectar secretion"; Palestine Journal of Botany, Jerusalem Ser. **4**: 207-224.
31. Fahn, A. 1952. "On the structure of floral nectarines" Botanic Gazette. **113**: 464-470.
32. Fahn, A. 1953. "The topography of the nectary in the flower and its phylogenetic trend". Phytomorphology. **3**: 424-426.
33. Fahn, A. 1969. "Plant anatomy: The Flower" Pergamon Press, Gran Bretaña. 413- 417.
34. Fahn, A. y T. Rachnilevits, 1970 "Ultrastructure and nectar secretion in *Lonicera japonica*" en (eds.) Robson N.K.B. Cutler, D.F. & Gregory, M. New Research in Plant Anatomy of Botany Journal of Linnean Society **63**: supl. **1**: 51-56 Academic Press, Londres.
35. Fahn, A. 1974. "Plant Anatomy" 2nd. Edn. Pergamon Press, Oxford.
36. Fahn, A. 1979a. "Secretory tissues in plants" Academic Press. Londres.
37. Fahn, A. 1979b. "Ultrastructure of nectaries in relation to nectar secretion" American Journal Botany, **66**: 977-985.

38. Fahn, A. 1988. " Secretory tissues in plants" New Phytologist. **108**: 229-257.
39. Fahn, A. 1998. " Nectaries Structure and Nectar Secretion"; Nectary Biology: Structure, Function and Utilization (Bir bahadur ed.), DATTSONS, J. Nehru Marg, Sadar, Nagpur, India. Pp. 1-20.
40. Frey - Wyssling. A. 1955. "The phloem supply to the nectaries". Acta Botánica Neerlandica. **4**: 358-369.
41. Frey–Wyssling, A. 1972. " Elimination processes in higher plants" Saussurea **3**, 79-90.
42. García, E. 1981. "Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen", UNAM. México.
43. Helder, R.J. 1958. The excretion of carbohydrates (nectarines) en " Encyclopedia of Plant Physiology" Springer- Verlag, Berlin. **6**: 978-990.
44. Hernández, C., T. Terrazas, E. Linares, 1990. " Las Colecciones del Jardín Botánico del Instituto de Biología, UNAM", la Secretaría Técnica del Instituto de Biología UNAM, México. Pp32.
45. INEGI, 1988 "Los municipios de Oaxaca", Colección de los municipios de México. Secretaría de Gobernación y Gobierno del estado de Oaxaca.
46. Jensen, W. A. 1962 " Botanical Histochemistry, principles and practice" W.H. Freeman, San Francisco.
47. Jiménez, K., 2002. "Embriología de *Pereskia Lychnidiflora* (De candolle, 1828) Cactaceae" Tesis para obtener el título de Bióloga, Facultad de Ciencias, UNAM, México.
48. Johansen, D.A. 1940. "Plant microtechnique". McGraw-Hill, Nueva York. 523pp.
49. Joilet, P. 1996 "Ants and Plants: An Example of Coevolution", Backhuys Publishers, The Netherlands.
50. Leuenberger, B. 1986 "*Pereskia (Cactaceae)*. Memories of the Botanic Garden. Nueva York. **41**: 1-141.

51. López, Ma. L., J. Márquez, G. Murguía, 1998. "Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas; libro de laboratorio" Laboratorio de Citología Vegetal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias de la UNAM, México. pp 116.
52. Martínez-Vázquez y A. Rublo, 1989. " In-*vitro* mass propagaron of the near-extinct *Mammillaria san-angelensis* Sánchez-Mejorada" Journal of Horticulture Science. **64** (1) 99-105.
53. Metcalf, C. R. y L. Chalk, 1950. "Anatomy of the Dicotyledons", 2 vols. Clarendon Press, Oxford.
54. Milburn, J.A. 1975. "Pressure Flow" Encyclopedias of Plant Physiology, N.S. Vol. 1 (Zimmerman y J.A. Milburn eds.). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
55. Mound, L.A. 1962. "Extrafloral nectarines of cotton and their secretions". Empire Cotton Growing Review. **39**: 254-261.
56. Otero-Arnaiz, A., A. Casas, C. Bartolo, E. Pérez-Negrón y A. Valiente-Banuet, 2003. " Evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) Under Domestication in the Tehuacán Valley, Central Mexico: Reproductive Biology" American Journal of Botany **90**(4):593-602.
57. Pickett, C.H. y W.D. Clark 1979 " The function of extrafloral nectarines in *Opuntia acanthocarpa* (Cactaceae). American Journal of Botany **83**: 1187-1194.
58. Rivas, A. I. 1995. " Estructura Del Pistilodio Durante El Desarrollo De Las Flores Masculinas De *Chamaedorea elegans* (Arecaceae), Tesis que para obtener el título de Bióloga, Facultad de Ciencias, UNAM, México, 38pp.
59. Rzedowski J. 1978. " Vegetación de México". Limusa, México. D. F.
60. Sullender, B. 1998. "A Natural History of Extrafloral Nectar-Collecting Ants in the Sonoran Desert" Rice University Press. Nuevo México.
61. Tilman, D. 1978. " Cherries, ants, and tent caterpillars: timing of nectar production in relation to susceptibility of caterpillars to ant depredation". Ecology **59**: 686-692.

62. Torres C. R., R. Torres., P. Dávila y J. L. Villaseñor. 1997. "Listados florísticos de México XVI. Flora del Distrito de Tehuantepec, Oaxaca". Universidad Nacional Autónoma de México. México. D. F.
63. Valiente-Banuet, A., Ma. Del Coro, A. Rojas-Martínez y L. Domínguez-Canseco, 1996. "Ecological relationships between columnar cacti and nectar-feeding bats in México" *Journal of Tropical Ecology* **12**: 103-119.
64. Valiente-Banuet, A., A. Rojas-Martínez, Ma. Del Coro, P. Dávila 1997. "Pollination Biology of Two Columnar Cacti (*Neobuxbaumia mezcalaensis* and *Neobuxbaumia macrocéphala*) in the Tehuacan Valley, Central Mexico" *American Journal of botany* **84**(4) 452-455
65. Valiente – Banuet, A. , Ma. Del Coro, 1997. Interacciones entre cactáceas y animales; polinización, dispersión de semillas y nuevos individuos En: " Suculentas Mexicanas: Cactáceas". México. CONABIO, SEMARNAP, UNAM, CVS.
66. Vázquez-Nin, G., O. Echeverría, 2000. " Introducción a la microscopía Electrónica Aplicada a las Ciencias Biológicas" Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México, Fondo de Cultura Económica, México, D. F. 167pp.
67. Vesprini, J. L., M. Nepi y E. Pacini, 1999. " Nectary Structure, Nectar Secretion Patterns and Nectar Composition in Two Helleborus Species" *Plant Biology* **1**: 560-568.
68. Wagner, E. 1997. " The influence of ant nests on Acacia seed production, herbivory and soil nutrients". *Journal of Ecology*, **85**: 83-93.
69. Weberling, F. 1992. "Morphology of flowers and Inflorescences" Cambridge University Press. USA. **154**: 192-201
70. Zandonella, P. 1967. "Stomates des nectaries floraux chez les Centrospermales", *Bulletin de la Societe Botanique de France*. **114** : 11-20.

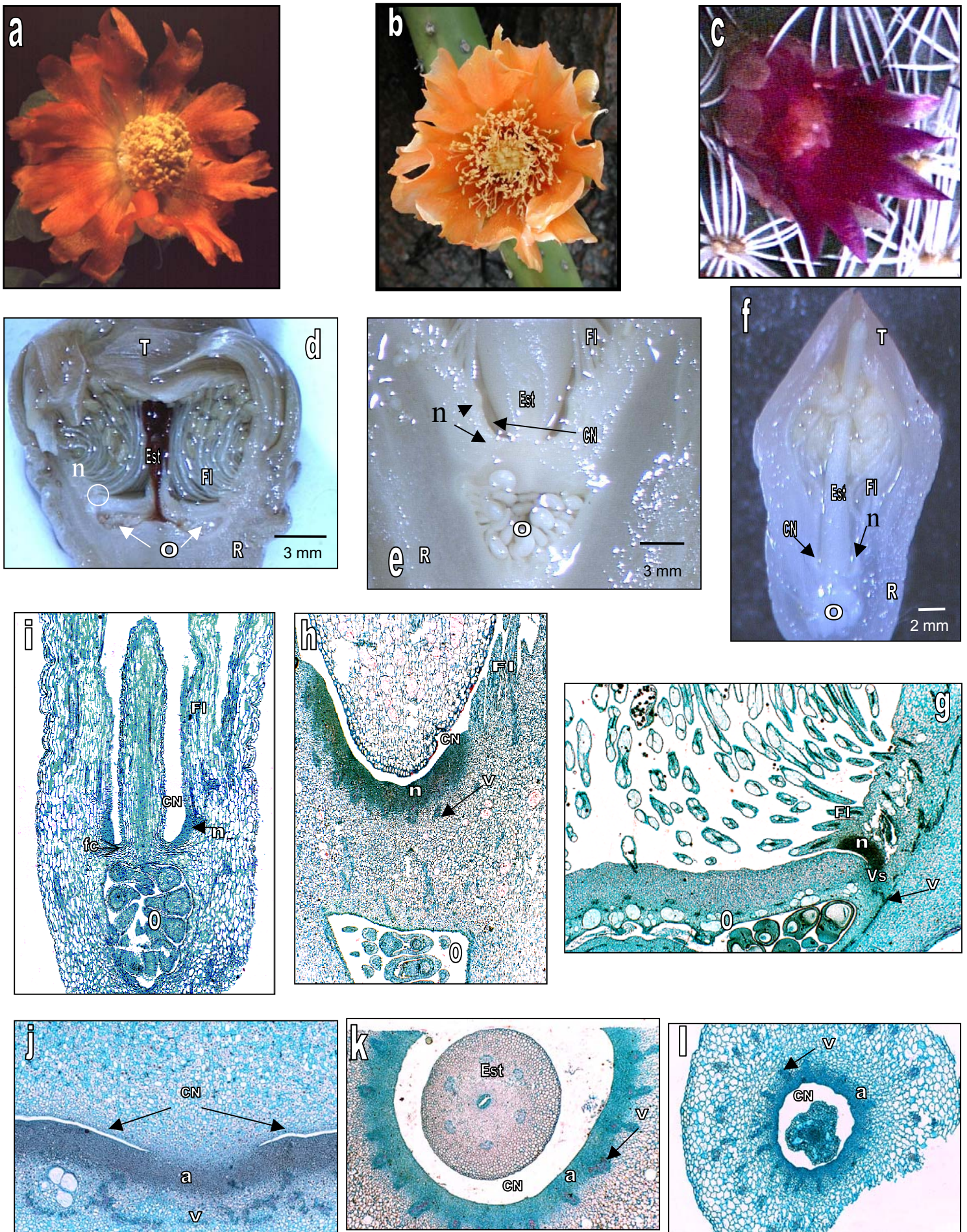


Figura 1. Morfología Floral y Ubicación del nectario

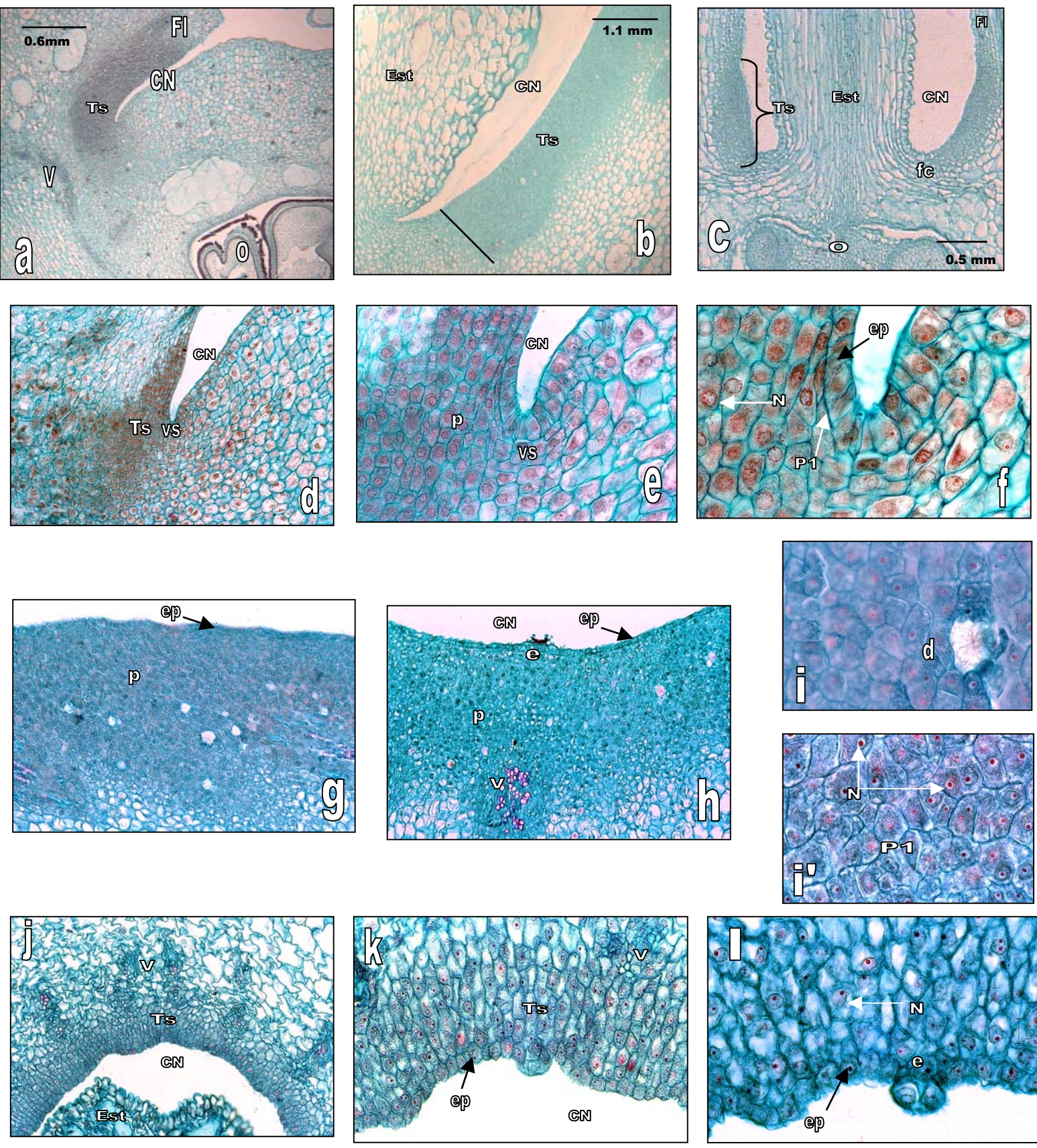


Figura 2. Estructura del Tejido

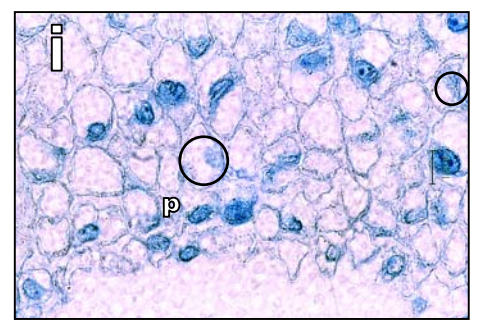
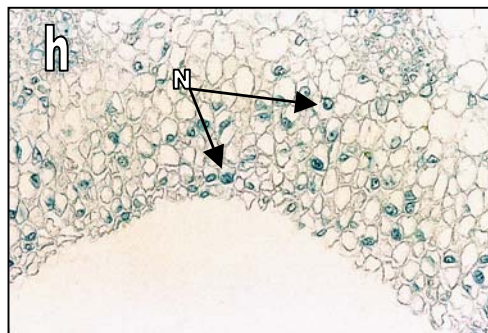
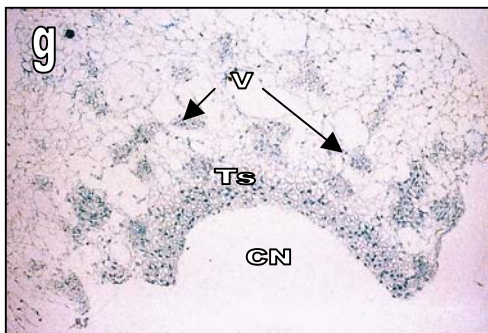
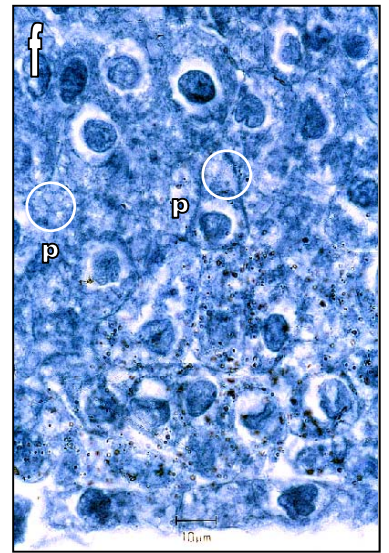
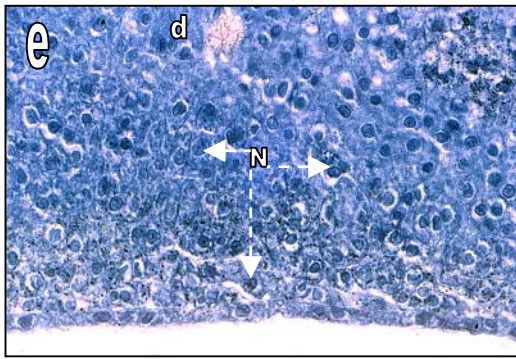
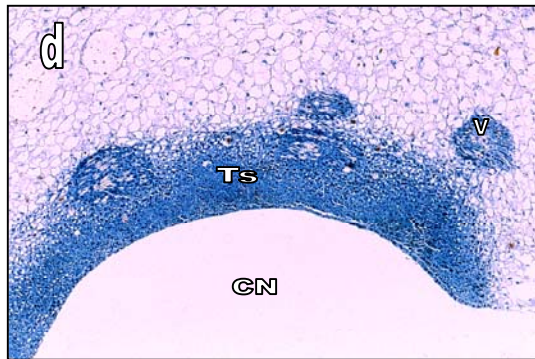
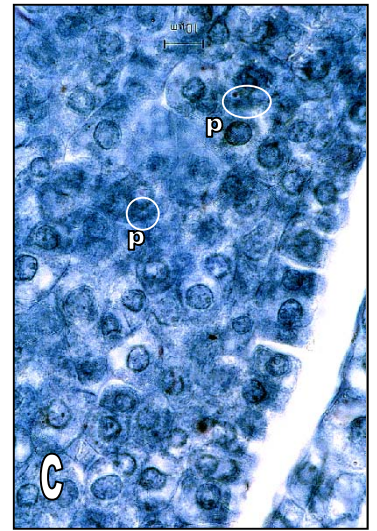
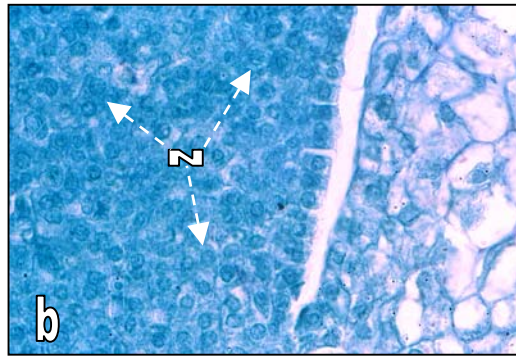
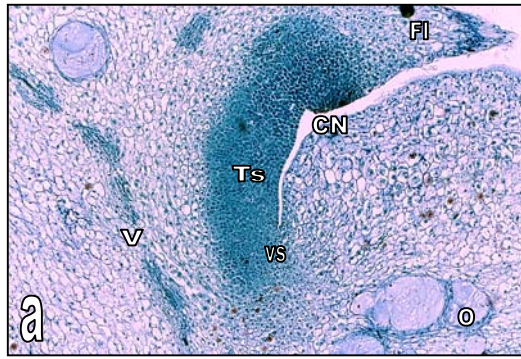


Figura 3. Histoquímica; Azul Negro de Naftol

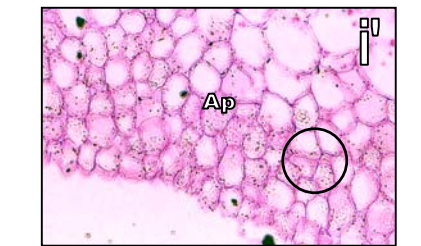
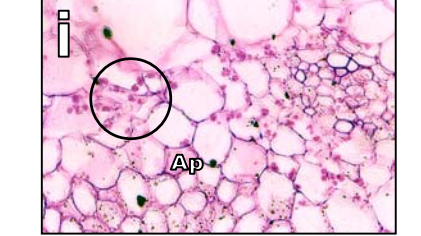
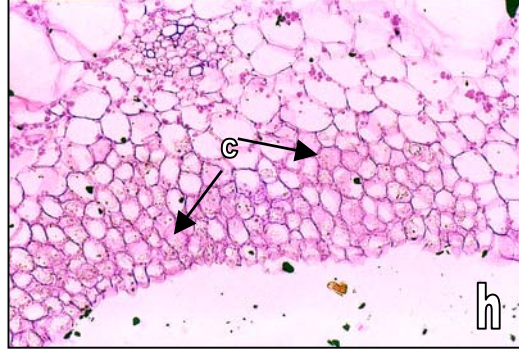
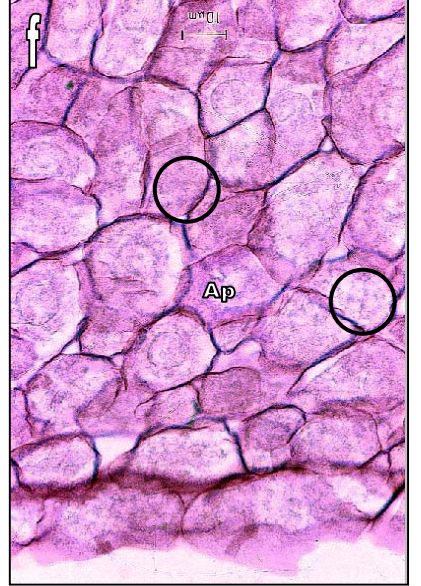
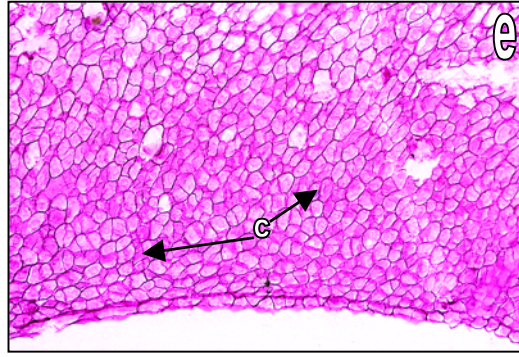
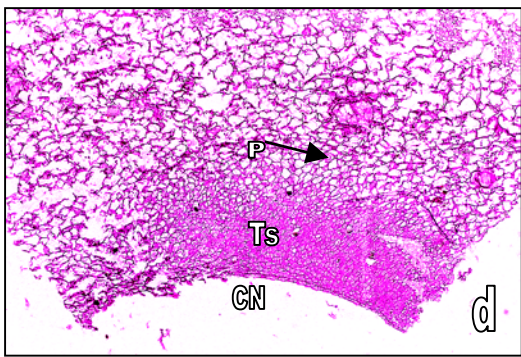
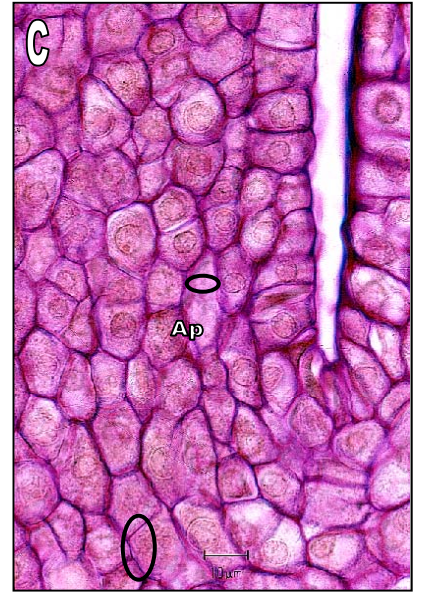
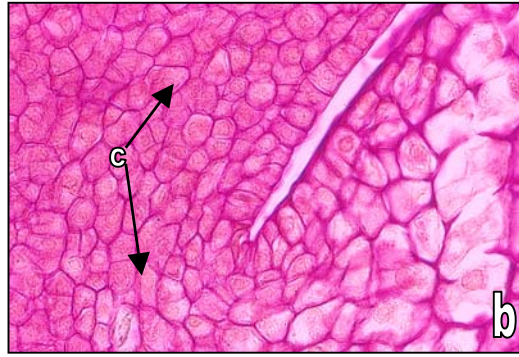
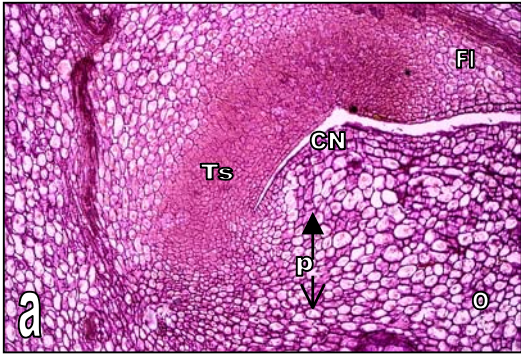


Figura 4. Histoquímica; Ácido Peryódico Reactivo De Schiff (APS)

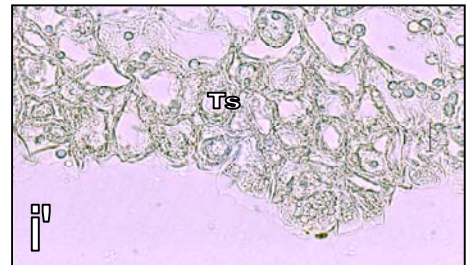
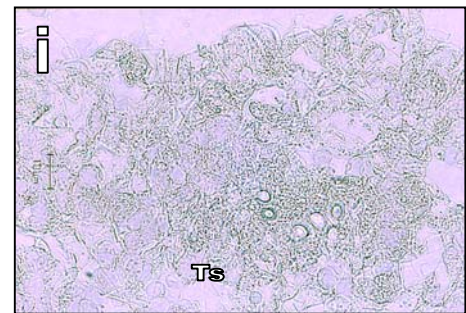
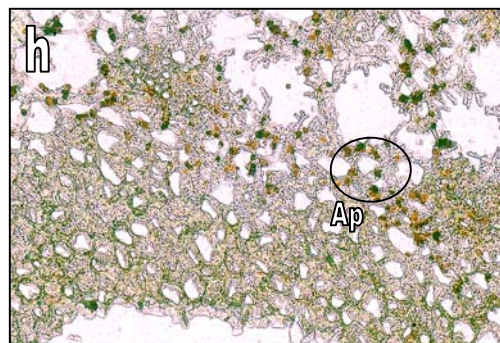
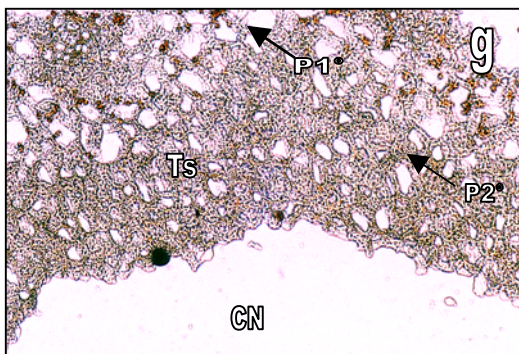
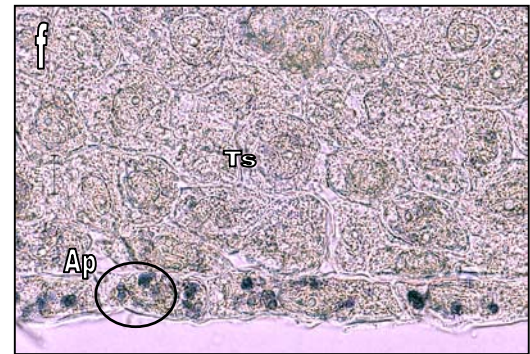
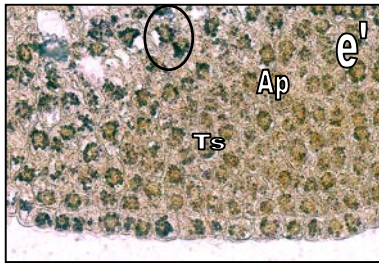
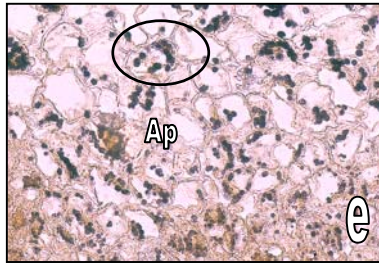
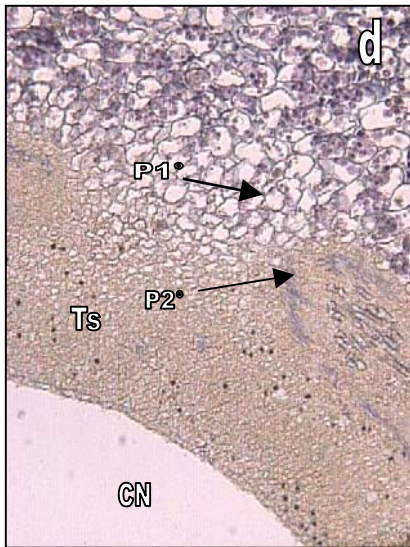
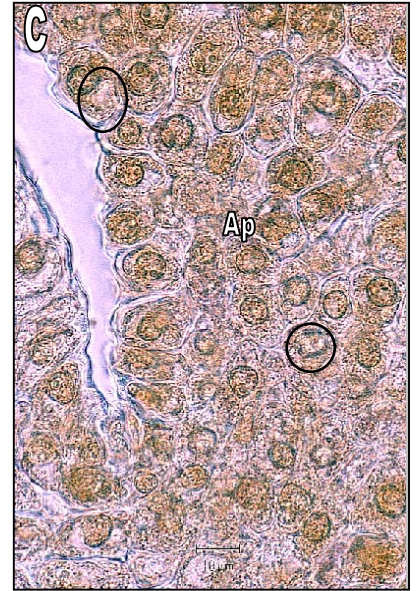
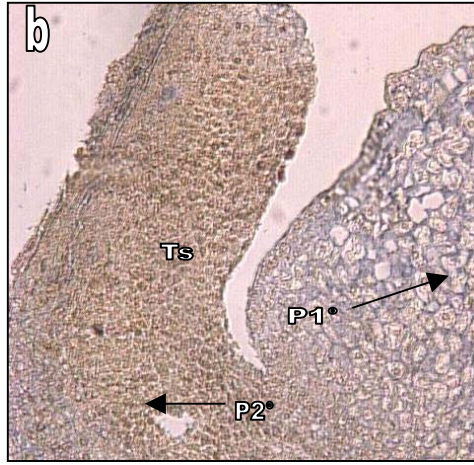
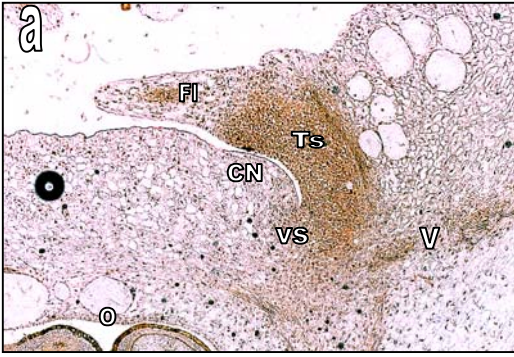


Figura 5. Histoquímica; Cloroyoduro de Zinc

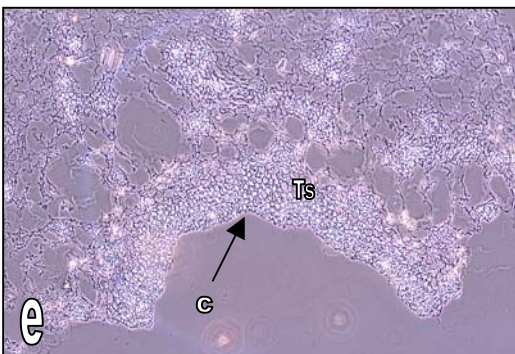
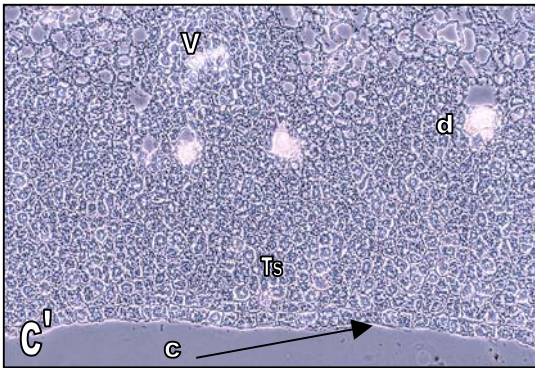
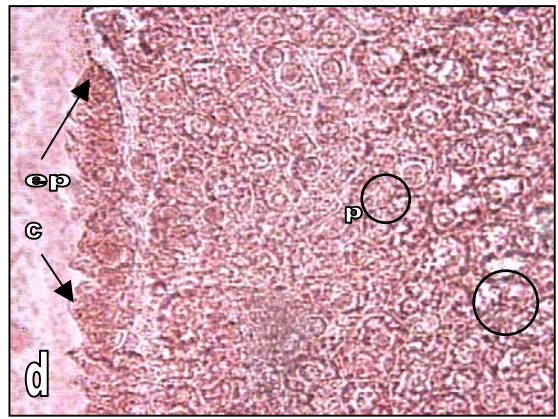
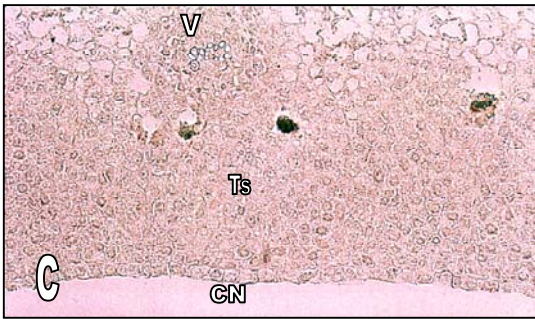
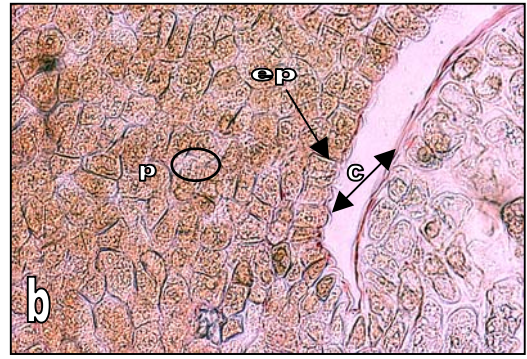
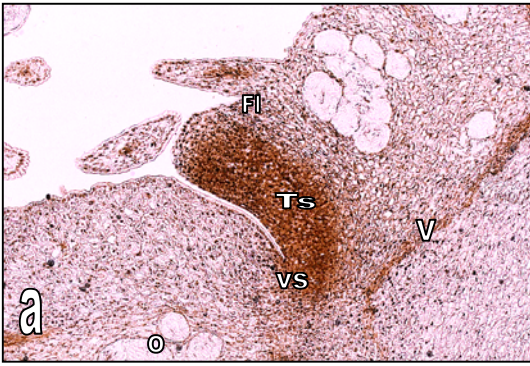


Figura 6 Histoquímica; Rojo "O" de Aceite

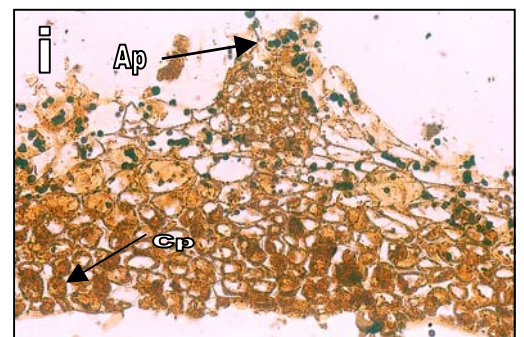
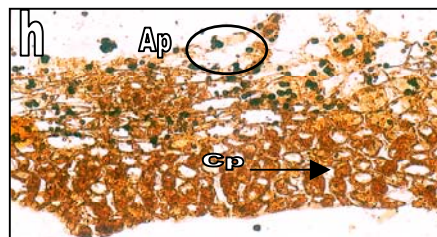
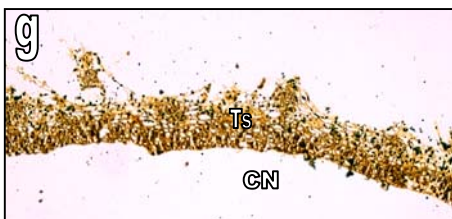
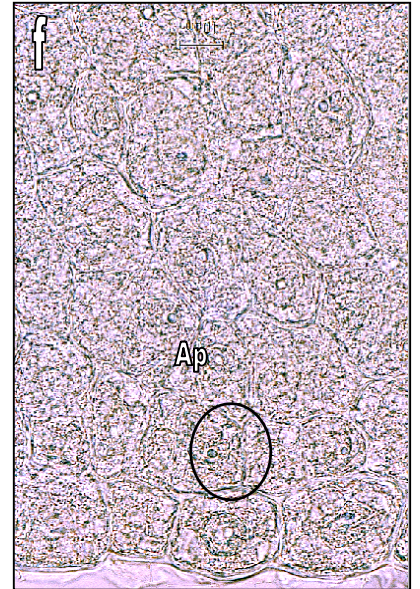
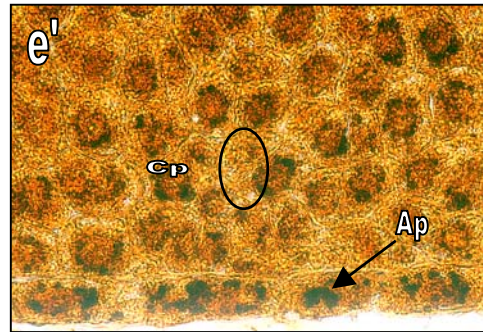
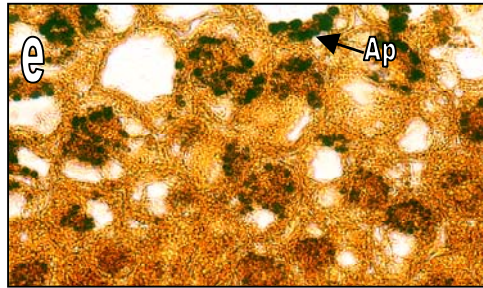
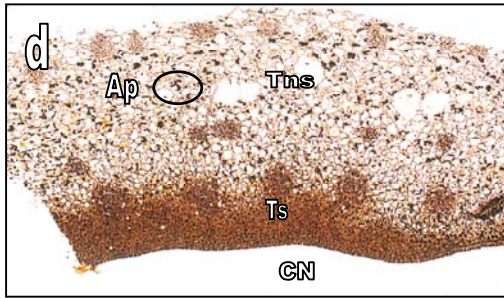
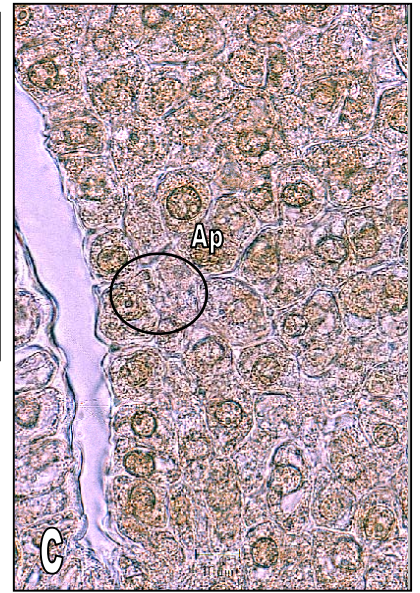
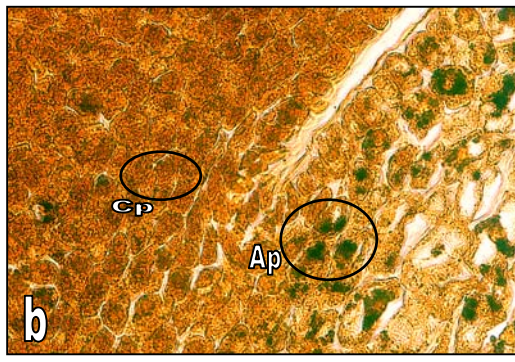
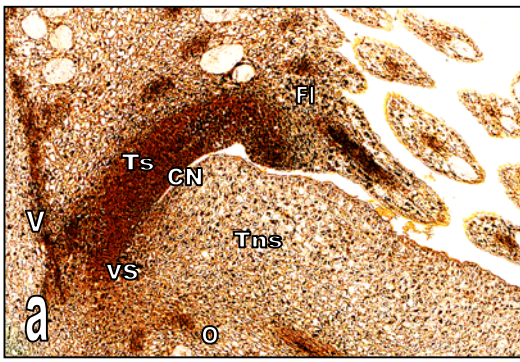


Figura 7 Histoquímica; Lugol

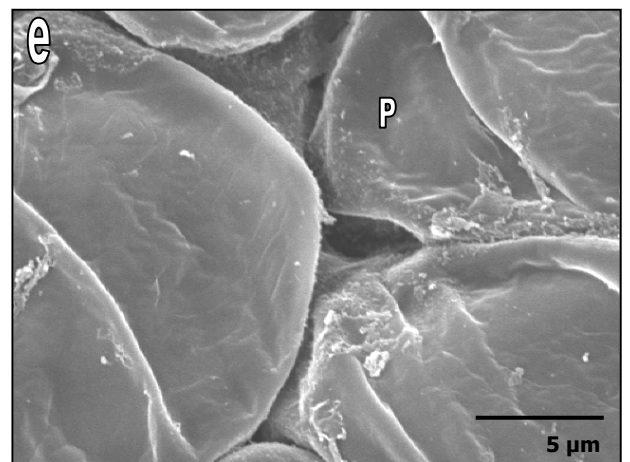
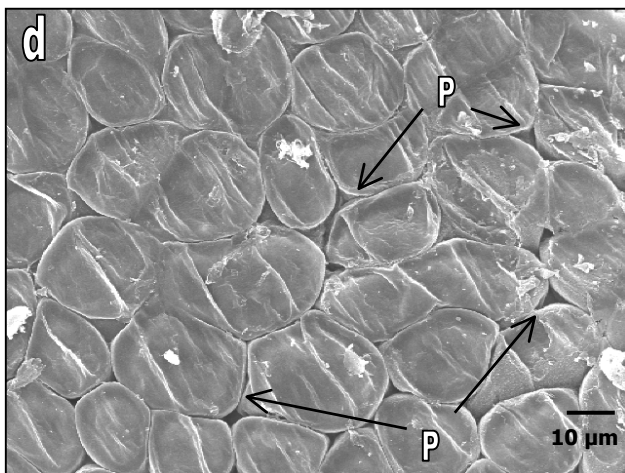
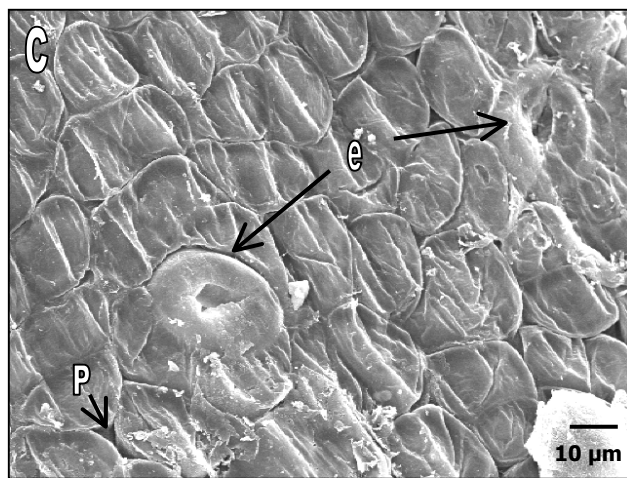
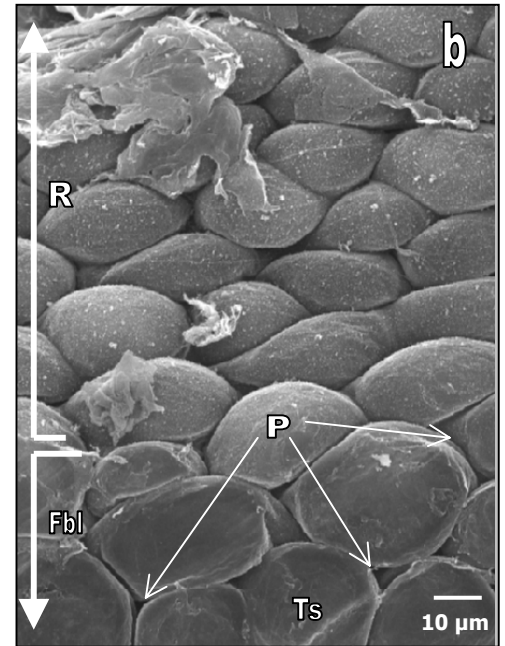
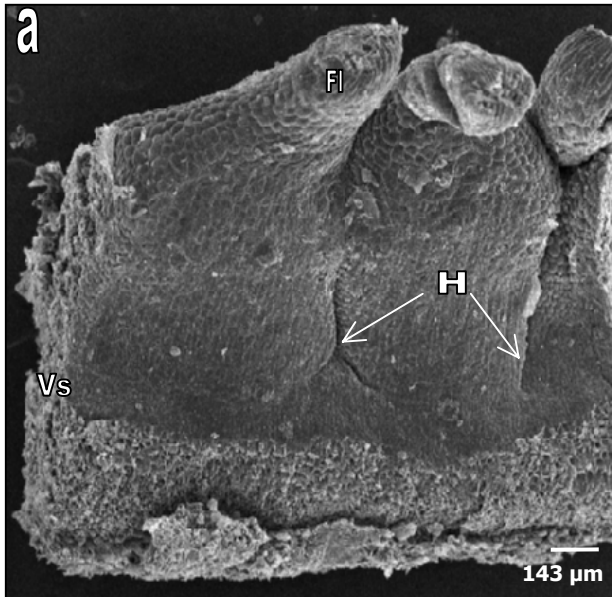


Figura 8 Microscopía Electrónica de Barrido

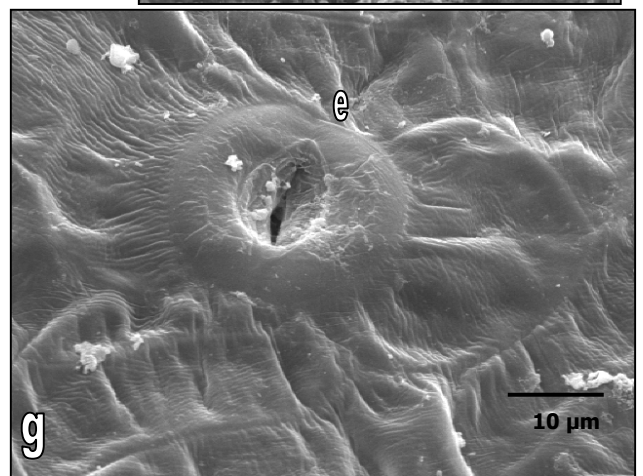
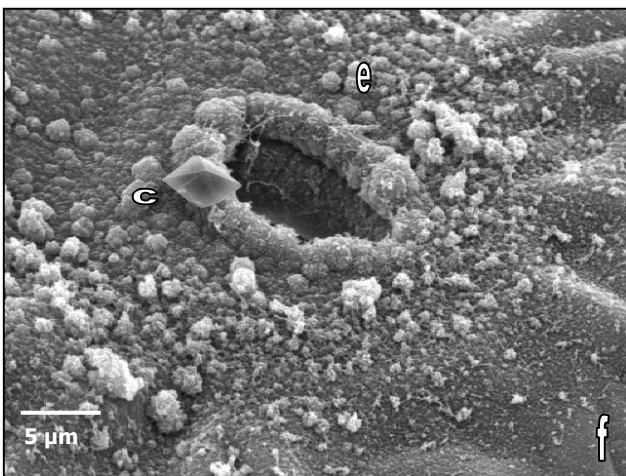
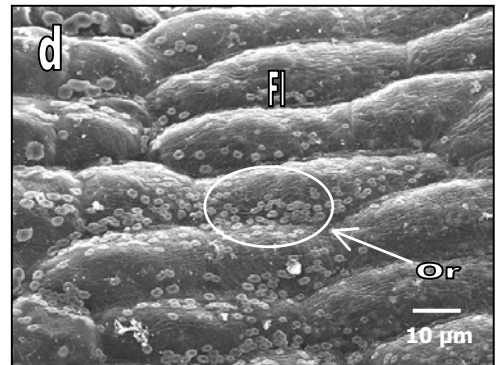
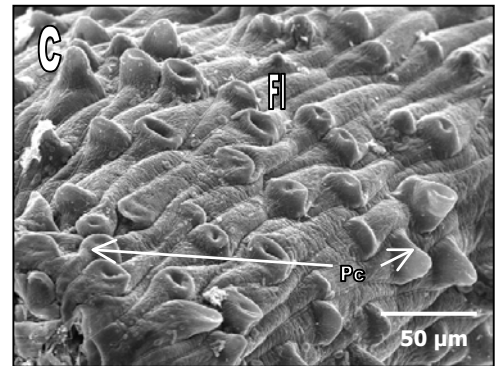
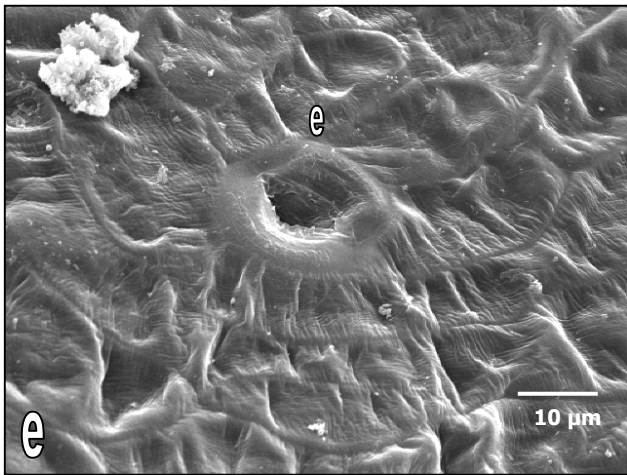
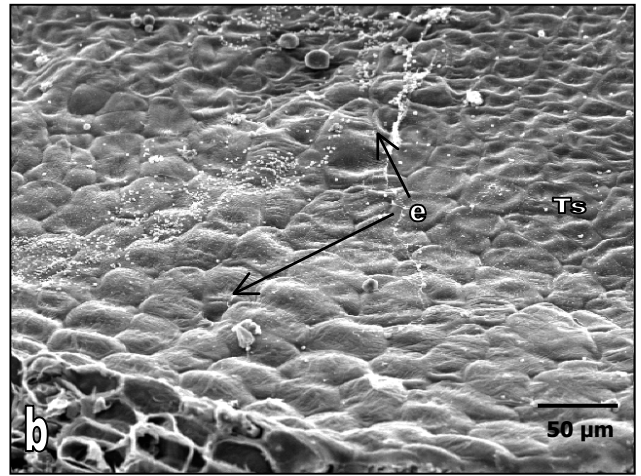
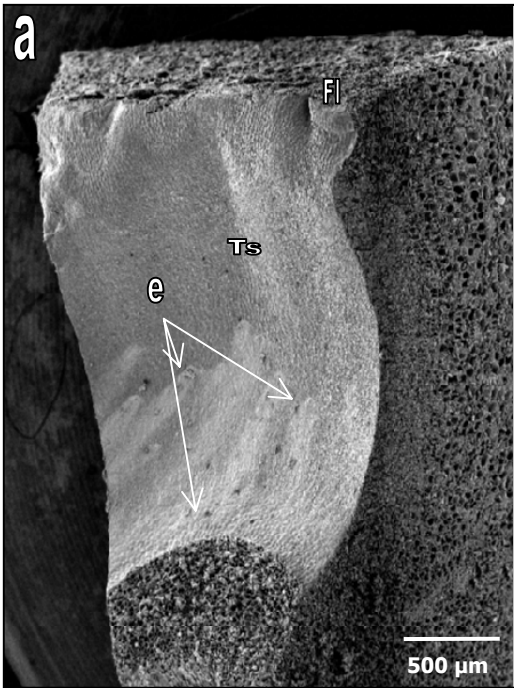


Figura 9 Microscopía Electrónica de Barrido

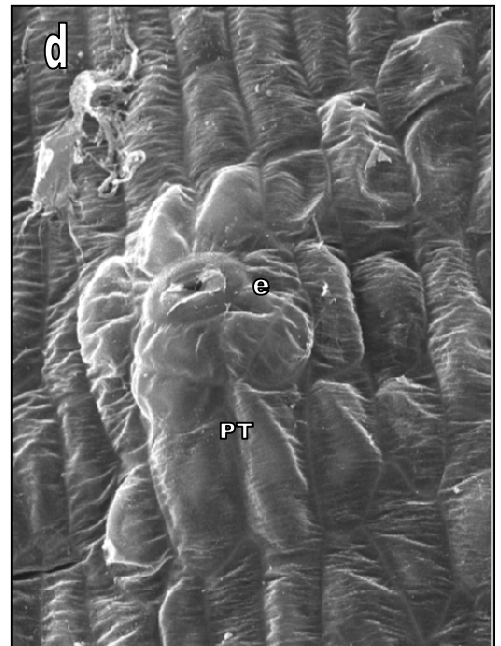
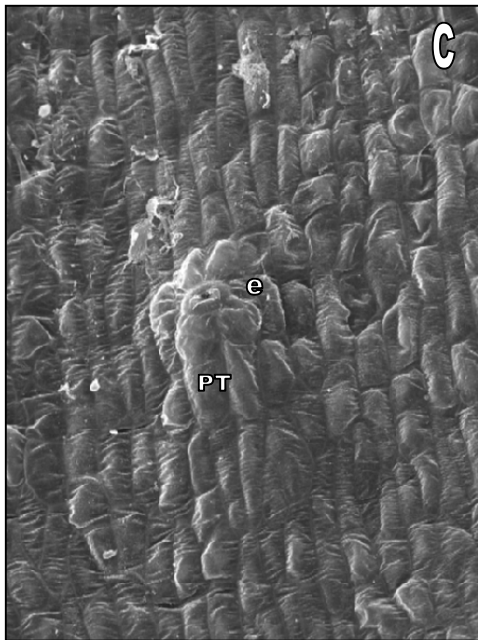
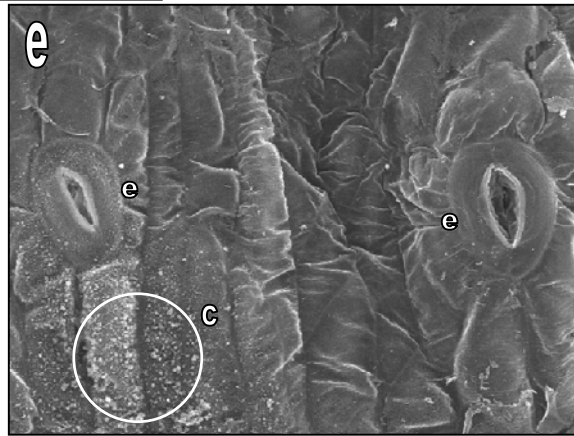
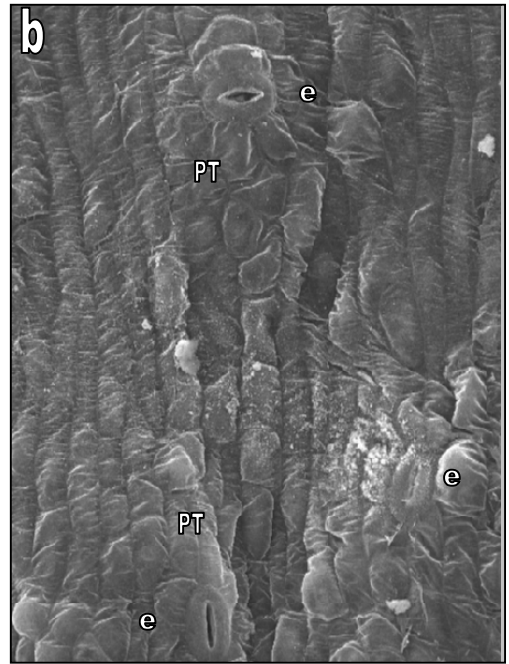
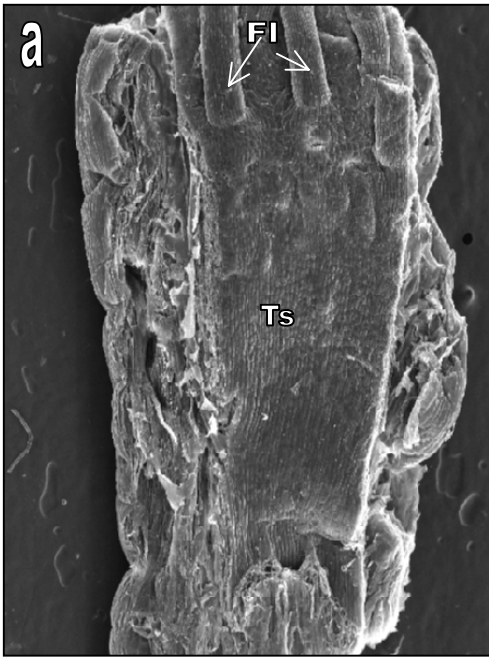


Figura 10 Microscopía Electrónica de Barrido

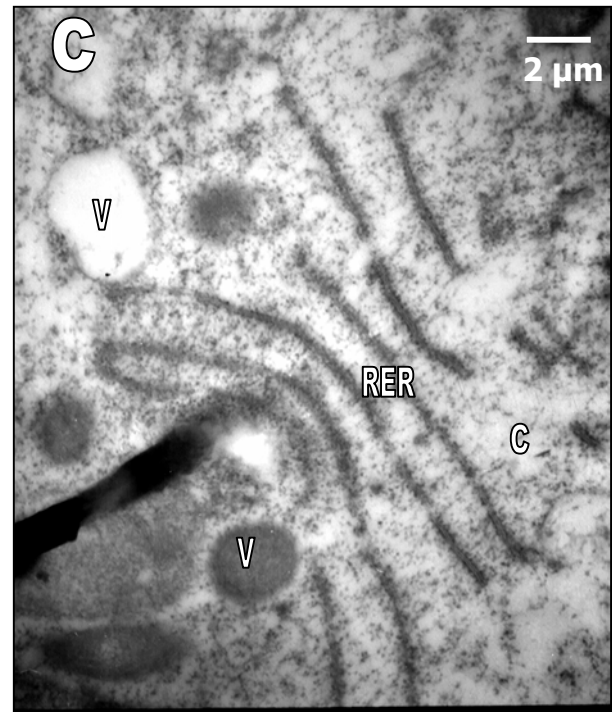
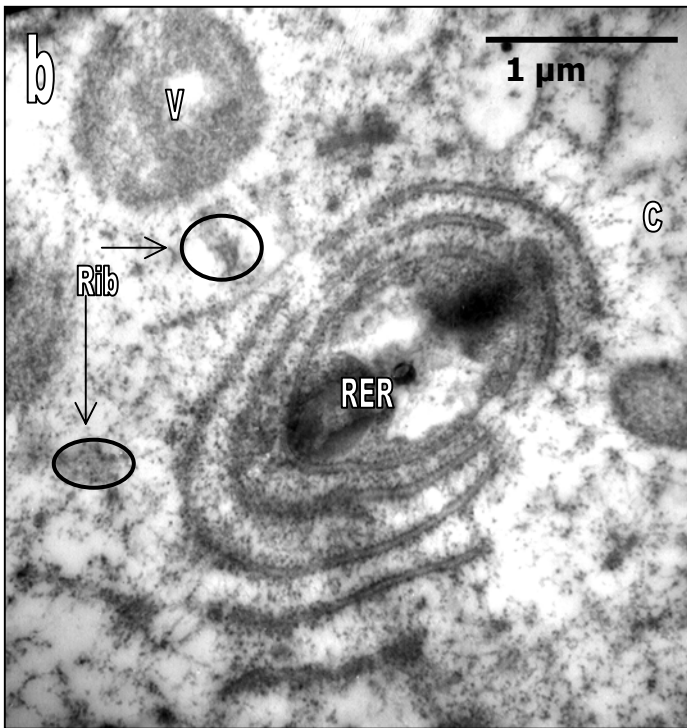
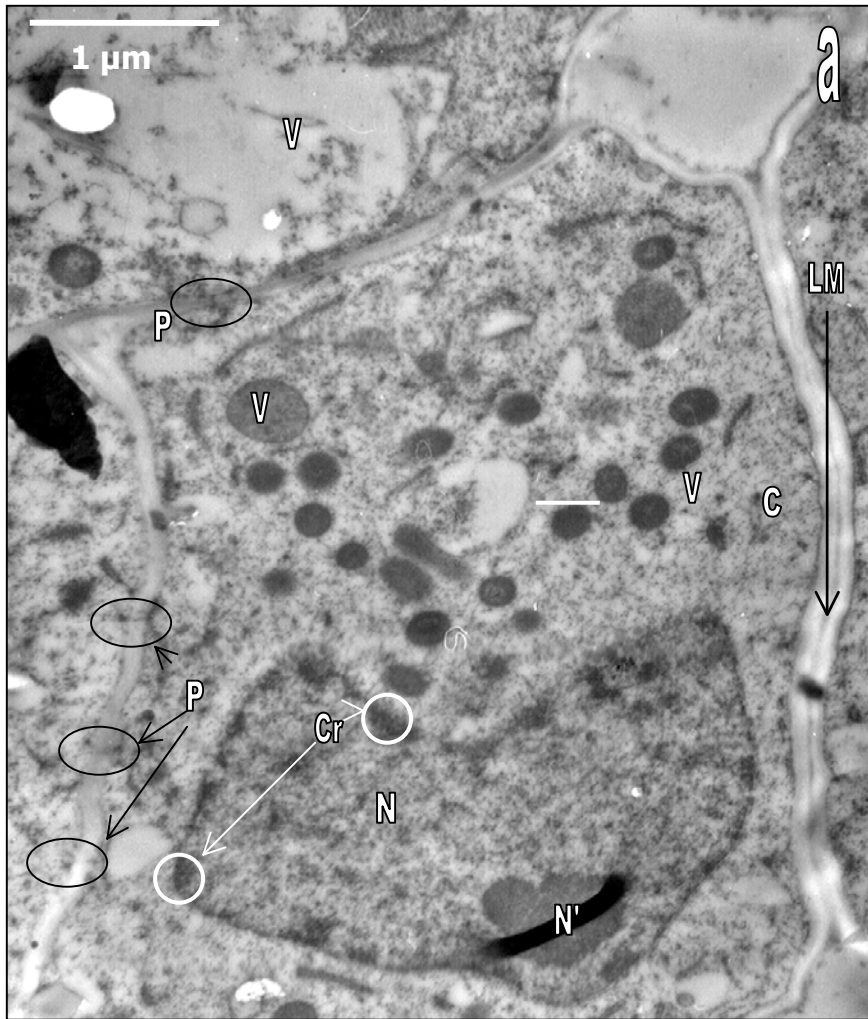


Figura 11. Microscopía Electrónica de Transmisión