

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS  
Instituto de Ecología**

**COMPOSICIÓN DEL NÉCTAR Y ACTIVIDAD DE LA  
INVERTASA EN PACHYCEREEAE (CACTACEAE) Y SU  
RELACIÓN CON LOS SISTEMAS DE POLINIZACIÓN**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRO (A) EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGÍA AMBIENTAL)**

**P R E S E N T A**

**ROCIO SANTOS GALLY**

**DIRECTOR (A) DE TESIS: Dr. ALFONSO VALIENTE BANUET**

**MÉXICO D. F.**

**MAYO, 2006**



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.

## AGRADECIMIENTOS

A CONACYT y Dirección General de Estudios de Posgrado (DGEP) por la beca otorgada.

A DGAPA por el apoyo de proyecto DGAPA IN 227605 otorgado al Dr. Alfonso Valiente-Banuet.

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Alfonso Valiente-Banuet por su dirección durante este trabajo y por su amistad.

A la Dra. Rocío Cruz Ortega por su inmensurable apoyo en todos los campos; por su paciencia para dejar claro que el trabajo de laboratorio también se disfruta, incluso cuando hay momentos difíciles. Por supuesto, por su amistad.

A la Dra. Teresa Terrazas Salgado por su apoyo en el trabajo de laboratorio, sus comentarios y por su gran conocimiento de las cactáceas columnares.

A la Dra. Sobeida Sánchez Nieto por sus consejos sobre las invertasas, por la revisión del trabajo y su amistad.

Al Dr. Gerardo Herrera Montalvo por sus comentarios y revisión del trabajo.

Al Dr. Cesar Flores y M en C. Luis Barbo H. por su apoyo en el laboratorio de la UBIPRO para los análisis de composición de azúcares y su amistad.

Al M en C. Alejandro González Voyer por su apoyo en los análisis estadísticos, por su gran conocimiento y sobretodo por su paciencia.

Al Dr. Jacinto Treviño Carreón y M. en C. Adolfo Vital Rumebe por su apoyo en campo y comentarios.

A todos los trabajadores del mundo, sin ellos la tuerca no giraría.

A todos los trabajadores del Instituto de Ecología, su labor es inmensurable.

A la comunidad de San Juan Raya, Puebla, de San Sebastián Frontera y Tecomavaca, Oaxaca. Siempre nos sentimos seguros en sus tierras.

A Quena y Martha por abrirme las puertas de su casa cuando fui a trabajar a Sonora.

A los compañeros del laboratorio por sus comentarios y apoyo en campo: Alfonso Torres, Tamara Osorno, Javier, Luguí Sortibrán, Nadia, Pedro, Arnoldo, Amelia Cornejo.

A Esther Thomforde Gally, Pachamama, sus enseñanzas me fortalecen y su energía  
irradia.

A Trinidad Gally Thomforde y Alberto Santos Mayet, con mucho cariño.

A Victor Santos Gally, por su sensibilidad y amistad.

A Alejandro González Voyer por compartir tantos momentos especiales y hacer sentir  
que la vida, aunque dura, se puede disfrutar. *Vamos juntos compañero...*

A un grupo de gente muy importante en mi vida y en el mundo: Roberto, Ana, Octavio,  
Leticia, Zeus, Liliana, Esteban, Gualberto, Felipe, Ángel, Laura, Miguel, Joe, Román y  
los que vienen.

A mis amigos (a) Rocío José, Nephtali, Juan, Luguí, Fera, Ivette, Ane, Francisco y los  
que se escapan de aquí.

A Lucille y Refugio

Los organismos están siempre construyendo y reconstruyendo sus nichos... Así, la evolución del organismo y del ambiente son procesos acoplados.

Richard Lewontin

# ÍNDICE

## **Resumen**

1

## **Abstract**

2

## **Introducción**

5

## **Objetivos**

*Generales y particulares*

14

## **Material y Métodos**

*Zona de Estudio*

16

*Floración*

18

*Composición de azúcares, volumen y concentración del néctar*

19

*Morfometría*

21

*Temperatura de la cámara nectarial*

21

*Extracción de proteínas y actividad de la invertasa (E.C. 3.2.1.2.6)*

22

## **Resultados**

*Composición de azúcares en el néctar*

24

*Volumen y concentración del néctar*

**28**

*Análisis de discriminantes canónicos*

**33**

*Actividad de invertasas*

**35**

*Temperatura de la cámara nectarial*

**38**

*Morfología*

**39**

**Discusión**

**42**

**Conclusiones**

**50**

**Literatura**

**51**



## RESUMEN

El néctar es una recompensa que ofrecen las plantas para atraer a los polinizadores. La fuente de energía que provee el néctar a los polinizadores viene principalmente de los carbohidratos: sacarosa, glucosa y fructosa. Las angiospermas tienden a producir néctares ricos en glucosa y fructosa o ricos en sacarosa. Esta división tiene implicaciones ecológicas importantes porque algunos organismos solo pueden consumir ya sea sacarosa o hexosas (glucosa y fructosa). Frecuentemente, las flores polinizadas por murciélagos y aves percheras producen néctares ricos en hexosas, mientras que aquellas polinizadas por colibríes, abejas y esfíngidos tienen néctares ricos en sacarosa. El que las flores o los tejidos especializados en producir néctar elaboren uno u otro tipo de azúcar podría estar relacionado con la actividad de la invertasa ( $\beta$ -fructofuranosidasa), la cual desdobla la sacarosa en dos monosacáridos glucosa y fructosa. Dentro de la tribu Pachycereeae (Cactaceae) al parecer la composición del néctar cambia de acuerdo a estos gremios, por lo cual resulta importante el estudio de la actividad de la invertasa en diferentes especies de la tribu y ver que efectos tiene en la composición de azúcares del néctar.

La presente investigación se enfocó en el análisis fisiológico del proceso de transformación de la sacarosa en flores de diferentes especies de la tribu Pachycereeae, a través de la medición de la actividad de la invertasa en los nectarios. Simultáneamente se determinó si la composición de azúcares en el néctar, el volumen y la concentración están relacionados con el síndrome de la polinización. Se analizó la composición de carbohidratos por medio de un espectrofotómetro infrarojo y la actividad de la enzima a partir del método del Dinitrosalicilato (DNS).

Los análisis de discriminantes sugieren que la proporción de sacarosa fue la variable que explicó la separación de las especies de acuerdo a su síndrome de polinización. De manera importante se mostró que para algunas especies, una mayor actividad de la invertasa está fuertemente relacionada con la producción de néctares ricos en hexosas. Así mismo, la actividad enzimática estuvo negativamente relacionada con la temperatura a la cual se colectó el tejido nectarial, por lo que se podría asumir que la selección favorecería una menor actividad en ambientes donde la temperatura alta afectaría su actividad. Una fuerte correlación entre el síndrome de polinización, su polinizador efectivo y la composición

química del néctar en algunas especies de la tribu Pachycereeae sugieren que el grupo polinizador pudo haber sido un importante agente de selección para la composición de azúcares en las especies estudiadas.

## ABSTRACT

Nectar is one of the rewards offered by plants to attract pollinators. Nectar provides energy to pollinators through carbohydrates; mainly sucrose, glucose and fructose. In nature, most angiosperms tend to produce either glucose and fructose rich nectars or sucrose rich nectars. The sugar composition of nectar has important ecological implications because some organisms can only consume either sucrose or hexose (glucose and fructose). Frequently, flowers pollinated by bats and perching birds produce fructose and glucose rich nectar, whereas those pollinated by hummingbirds, bees and hawkmoths are rich in sucrose. The fact that flowers or other specialized tissues produce either one or another type of sugar could be related to the activity of the invertase ( $\beta$ -fructofuranoside) enzyme, which cleaves sucrose producing the two monosacharides glucose and fructose.

The Pachycereeae tribe (Cactaceae) species are pollinated by different guilds and the composition of their nectar changes according to these guilds. The common ancestor of the tribe is pollinated by bats and derived species have flowers that are associated to pollination by bats, as well as by hummingbirds, hawkmoths and bees, which highlights the importance to study the activity of invertase, in different species of the tribe, due to its effects on the sugar composition of the nectar.

This research focuses on analyzing the physiological processes of sugar transformation in different species within the tribe Pachycereeae. The aim of the study was to determine if nectar composition, volume and concentration was related to the pollination syndrome, while at the same time determining if changes in nectar composition were related to increase or decrease invertase activity. For this purpose, we employed ISR spectrophotometer to analyze the sugar composition of the nectar of 15 species. Enzyme activity was measured by the Dinitry Salicylate Acid (DNS) method. The discriminant analyses showed that the sucrose proportion was the variable which better explain the separation between different pollination syndromes. Futhermore, in species with nectar rich in hexoses the activity of invertase was higher than the activity of species with sucrose nectar. Also, enzymatic activity was negatively related with the temperature at which the nectarial tissue was collected, this suggests that selection could favor a reduction in the activity of the enzyme in temperatures which affect its structure. The strong correlation between major pollinator classes and nectar sugar composition in some species in the tribu Pachycereeae suggests that the pollinator

guilds have been an important selection agent affecting sugar composition in the studied species.

## INTRODUCCIÓN

Las interacciones entre las plantas y los animales han sido la base para comprender la evolución de las estructuras florales. Este tema comienza en el siglo XVIII con los trabajos de Karl Sprengel, quien demostró que las flores servían como atrayentes de los polinizadores, una opinión que iba claramente en contra de las ideas que aseguraban que las flores eran parte de la creación de la naturaleza por dios para deleite humano (Vogel, 1996). Fueron las observaciones de éste botánico las que ayudaron a Darwin (1862) a plantear la idea de que la gran diversidad de formas florales son el producto de las interacciones especialistas entre las plantas y sus polinizadores. Décadas después, este razonamiento condujo al surgimiento del concepto de *síndrome de la polinización*, que postula que diferentes grupos de plantas coinciden en una composición floral (color, forma, esencias y características del néctar) que sirve para atraer a un tipo particular de polinizador. De la misma forma, hay conjuntos de animales para los cuales la principal o única fuente de energía son las flores y que presentan convergencias morfológicas, fisiológicas y conductuales para el aprovechamiento de las recompensas florales. En consecuencia, la selección natural favorece aquellos rasgos morfológicos, fisiológicos o ecológicos de las plantas que sirvan para atraer a los visitantes más eficientes en la polinización (Stebbins, 1970; Faegri & van der Pijl, 1971; Waser *et al.*, 1996).

En general se ha aceptado que las flores atractivas para aves son aquellas de color amarillo brillante o que tienden a rojo, alargadas con el tubo de la corola angosto y abundante néctar diluido (Faegri y van der Pijl, 1971); las flores polinizadas por abejas pueden ser amarillas o azules, con pistas para que aterricen los insectos y con néctares concentrados de sacarosa (Wilson *et al.*, 2004); aquellas atractivas para ser polinizadas por mariposas del grupo de los esfíngidos son flores grandes y tubulares, de color blanco, rosa pálido o amarillo pálido

y con una gran cámara nectarial (Proctor y Yeo, 1979); mientras que las flores robustas que van de blancas a cremas, con olor a humedad y que producen grandes cantidades de polen y néctar, principalmente en la noche, son atractivas especialmente para murciélagos (Faegri y van der Pijl, 1971).

A pesar de que el concepto de síndrome de polinización propuesto por muchos autores (Percival, 1961; Faegri y van der Pijl, 1971; Baker y Baker, 1983) refleja una coevolución para todas las características que se describen, y que ha sido criticado por considerar a los sistemas de polinización más dinámicos y generalistas (Herrera, 1996, Waser *et al.*, 1996, Ollerton, 1996), en muchos casos han servido como una herramienta para predecir la polinización por colibríes, murciélagos y esfíngidos en especies del Nuevo Mundo (Cruden, 1997).

En el caso del néctar, algunos autores han propuesto que la composición de azúcares está relacionada con el tipo de polinizador (Baker y Baker, 1983; 1990), por lo que tomar en conjunto las características morfológicas de las flores y el tipo de néctar puede ser una forma de predecir quién es el polinizador.

El néctar tiene una importancia crucial ya que es una recompensa energética para los encargados del transporte de los gametos. Las propiedades alimenticias del néctar se deben principalmente a los azúcares presentes, así como también a los aminoácidos, vitaminas y minerales que se encuentran en pequeñas cantidades. Dentro de los carbohidratos, los más comunes son la sacarosa, fructosa y glucosa, hallándose en algunas especies otros azúcares como la arabinosa, galactosa, manosa, xilosa, entre otros. (Percival, 1961; Faegri y van der Pijl, 1971; Howell, 1974; Kunz, 1982; Baker & Baker, 1983; Gottsberger *et al.*, 1984; Baker *et al.*, 1998). Del análisis de la composición de azúcares en el néctar se encontró que dentro de las angiospermas existe una división entre aquellas que producen nectares donde predomina la sacarosa y otras donde predominan las hexosas: glucosa y fructosa (Baker y

Baker, 1982, 1983; Barnes *et al.*, 1995; Baker *et al.*, 1998; Perret *et al.*, 2001). La sugerencia coevolutiva que se ha propuesto entre la composición de azúcares y el tipo de polinizador se debe a que se ha observado que mientras las flores polinizadas o visitadas por abejas, colibríes y esfíngidos presentan néctar con sacarosa, muchas de las flores polinizadas por murciélagos y paseriformes producen néctares con hexosas (Percival, 1961; Pyke y Waser, 1981; Baker y Baker 1982, 1983; Scogin 1985; Freeman *et al.*, 1985; Stiles y Freeman, 1993; Barnes *et al.*, 1995; Petit y Freeman, 1997; Herrera, 1999; Petanidou *et al.*, 2000; Perret *et al.*, 2001; Santos, 2002;; Nicolson, 2002).

Para ciertos polinizadores la composición de azúcares en el néctar puede ser una limitante. Por ejemplo, se ha demostrado que especies de aves percheras de familias estrechamente relacionadas (Muscicapidae, Sturnidae y Mimidae) carecen de la sacarasa (enzima digestiva que ayuda a hidrolizar la sacarosa), por lo cual presentan aversión a la sacarosa alimentándose de néctares con glucosa y fructosa (Martínez del Río *et al.*, 1988, Martínez del Río y Stebbins, 1989; Martínez del Río, 1990). Se conoce para algunas especies de plantas polinizadas por este tipo de aves que el néctar producido es de hexosas, sugiriendo que los polinizadores están ejerciendo una fuerte presión de selección sobre las características de recompensa floral (Dupont *et al.*, 2004).

En los cactus columnares (tribu Pachycereeae) se ha evidenciado que especies polinizadas por murciélagos producen néctares ricos o dominantes en hexosas (Petit y Freeman, 1997; Santos, 2002). Al parecer, este tipo de producción de néctar, puede estar asociado a la actividad de la invertasa en los nectarios florales (Nicolson, 1998).

Los nectarios florales como todos los tejidos demandan energía y esqueletos arborizados para su crecimiento, desarrollo y funciones específicas. En la mayoría de las plantas la molécula que se transporta para cubrir estas necesidades es la sacarosa, y viaja

desde los tejidos fuente, a través de los tubos cribosos y hasta los tejidos demanda, ya sea vía plasmodesmos o vía apoplasto, en donde puede ser liberada como disacárido o bien transformarse en hexosas a partir de la actividad de la invertasa de dicho tejido (Fig. 1).

La invertasa tiene tres isoformas con propiedades bioquímicas y de localización diferentes, en citoplasma (invertasa alcalina o neutra), en la vacuola (invertasa ácida soluble), y en la pared celular (invertasa ácida insoluble) (Sturm y Guo-Qing, 1999; Trouverie *et al.*, 2003). Se conoce que las invertasas de pared hidrolizan a la sacarosa que llega vía el apoplasto, mientras que las de vacuola y citoplasma invierten el disacárido que llega por los plasmodesmos (Williams *et al.*, 2000).

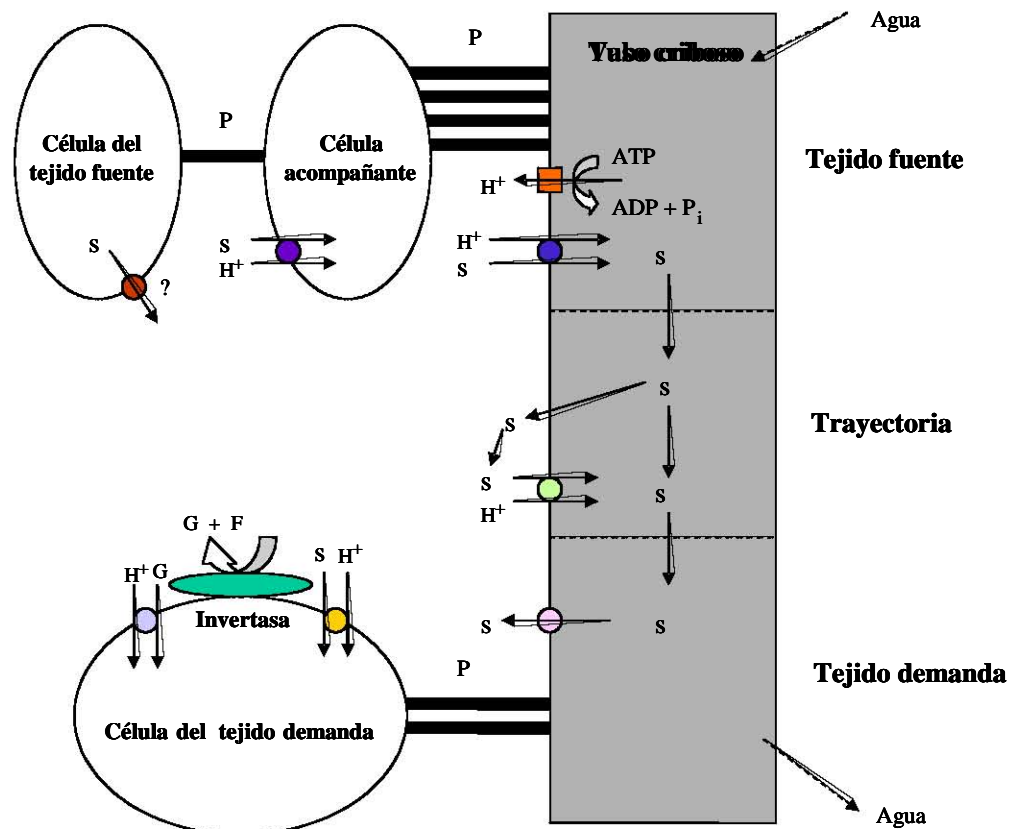
Factores abióticos pueden afectar la actividad de las enzimas. Por ejemplo, cuando la temperatura se eleva por arriba de las condiciones óptimas de actividad de la enzima aumenta la probabilidad de que se rompan las múltiples interacciones no covalentes (puentes de hidrógeno, enlaces de Van der Waals, etc.) que permiten mantener la estructura tridimensional de esta, llevando, en muchos casos, a la desnaturalización de la enzima o a cambios conformacionales que alteran el sitio activo de la enzima y el decremento en la actividad catalítica (Hames *et al.*, 1997). Los amortiguadores naturales que existen en la célula permiten mantener la estructura óptima de las proteínas para su actividad normal, aún cuando la temperatura fluctúe 5-10° C arriba o debajo de la temperatura óptima; sin embargo, en especies como el maíz, que crece óptimamente a 27° C, el mecanismo enzimático sufre estrés cuando la temperatura sube 10° C (Nebiolo y White, 1985; Stewart *et al.*, 1990). Es así como los factores abióticos pueden estar influyendo en la calidad del funcionamiento de las enzimas y producir variaciones en la concentración de sus productos.



El tejido nectarial libera el néctar ya sea, por tricomas o estomas modificados, o bien, por las células del parénquima, las cuales drenan el néctar hacia los espacios intercelulares y después hacia la cámara nectarial (Fahn, 1979; Petanidou *et al.*, 2000). La hidrólisis de la sacarosa produce una solución rica en hexosas con una osmolaridad casi del doble de la original, lo que provoca que se introduzca agua hacia la solución (fenómeno osmótico) produciendo soluciones más acuosas y menos concentradas (Nicolson, 1998; Jackson y Nicolson, 2002; Nicolson, 2002). Cuando la actividad de la invertasa en el tejido nectarial es óptima cambia la composición de los azúcares en el néctar y esto tiene un efecto en el volumen y la concentración. Subsecuentemente, la variación en el volumen del néctar puede influir en el comportamiento de los polinizadores incrementando la tasa de visitas, el número de flores visitadas en una inflorescencia o la duración de las visitas (Pleasants, 1981; Galen y Plawright, 1984; Rathcke, 1992; González *et al.*, 1995). A nivel intraespecífico algunas flores producen más néctar que otras, característica que puede ser heredable, incluso en especies silvestres (Leiss *et al.*, 2004), así que si el fenotipo de mayor producción de néctar está siendo seleccionado, los polinizadores podrían estar jugando un papel importante en las características como el volumen, la concentración y la composición de azúcares en el néctar.

En condiciones de laboratorio se ha probado que la variación en la concentración de azúcares en el néctar puede influir en las preferencias de los polinizadores. Por ejemplo Shondube y Martínez del Río (2003) encontraron que el colibrí *Eugenes fulgens* y el picaflor *Diglossa baritula* consumen más sacarosa cuando la concentración es mayor y soluciones de hexosas cuando es menor.

A nivel ecológico se podría inferir que los néctares con hexosas pueden ser favorables para las plantas que reciben polinizadores de tallas grandes, ya que estas soluciones al ser osmóticamente más concentradas se evaporan menos rápidamente que las de sacarosa (Nicolson, 1998), y por lo tanto, permanecen más tiempo disponible para los polinizadores.



Modificado de Williams *et al.*, 2000.

**Figura 1.** Transporte de la sacarosa (s) desde el tejido fuente al tejido demanda. Existen dos vías para el transporte de la sacarosa el primero es vía plasmodesmos (P) y el segundo vía apoplasto (círculo rojo), en este último las invertasas de pared (ovalado verde) podrían hidrolizar a la sacarosa.

En la tribu Pachycereae dividida en dos subtribus, Stenocereinae y Pachycereinae, la mayoría de las especies tienen síndrome quiropterófilo, como *Stenocereus stellatus*, *S. dumortieri*, *Pachycereus pringlei*, *Neobuxbaumia tetetzo*, entre

otras. (Gibson y Nobel, 1984; Nassar *et al.*, 1997; Valiente-Banuet *et al.*, 1997a; Casas *et al.*, 1999; Fleming *et al.*, 2001). Al parecer éste síndrome es la forma ancestral en Stenocereinae, y especies derivadas tienen flores que se asocian a la polinización por colibríes, como *S. alamosensis* (Gibson y Nobel, 1984); esfíngidos, como *S. eruca*, *S. standleyi*, y *S. gummosus* (Gibson y Nobel, 1984; Clark y Molina-Freaner, 2003). Dentro de la tribu también podemos encontrar palomillas nocturnas como polinizadores de *Lophocereus gatessii* y *Lophocereus schottii* (Holland y Fleming, 1999) e himenópteros que polinizan a *Myrtillocactus geometrizans*, *M. cochal*, *M. eichlamii*, *M. shenkii*, *Polaskia chichipe*, *P. chende* y *Escontria chiotilla* (Otero-Arnaiz *et al.*, 2003; Cruz y Casas, 2002; Valiente-Banuet com. pers.).

Aunque lo descrito arriba se cumple para muchas especies de la tribu, existen datos que muestran que especies localizadas en regiones extratropicales (*Carnegiea gigantea*, *Stenocereus thurberi* y *Pachycereus pringlei*) con características asociadas a murciélagos, son polinizadas tanto por murciélagos como por aves e insectos, (Fleming *et al.*, 2001); por lo que estas especies con sistemas generalistas de polinización podrían ser intermedios entre uno y otro sistema, por ejemplo *P. pecten-aboriginum*. Esta especie presenta síndrome de polinización para murciélago y efectivamente es polinizado por murciélagos en las poblaciones localizadas en la costas de Jalisco, pero la encontramos con un sistema de polinización generalista en poblaciones localizadas en las costas de Sonora (Molina-Freaner *et al.*, 2004; Valiente-Banuet *et al.*, 2005); sin embargo se sabe poco de la composición de su néctar.

La composición de azúcares en el néctar en algunas tribus o géneros con sistemas de polinización diferente, ha mostrado que en ciertos casos esta característica energética tiende a conservarse más que las características morfológicas como el tamaño, color o

forma de la flor (Perret *et al.*, 2001; Galetto y Bernardello, 2003) mientras que en otras especies existe una diferencia marcada en esta característica (Barnes *et al.*, 1995, Dupont *et al.*, 2004). En la tribu Pachycereeae no hay suficientes sobre el néctar, sin embargo para algunas especies la composición química se ha sugerido que podría ser el resultado de la selección del grupo polinizador. De acuerdo con la filogenia propuesta por Cornejo y Simpson (1997), *S. stellatus* y *S. gummosus* son especies cercanamente relacionadas (Fig. 2), la primera es polinizada por murciélagos (Casas *et al.*, 1999) y produce un néctar rico en hexosas ( $S/ G+F = 0.26$ ) (Santos 2002), mientras que *S. gummosus* es polinizado por esfíngidos (Clark & Molina-Freaner, 2003) y produce un néctar dominante en sacarosa (datos no publicados).

Debido a que la composición del néctar en las flores se encuentra asociado a la actividad de la invertasa y ésta a su vez está regulada por factores como la concentración del sustrato y la temperatura del medio donde funciona, resulta importante estudiar qué diferencias o cambios en la actividad de esta enzima existen en una tribu con distintos sistemas de polinización. Obtener datos de especies cercanamente relacionadas, nos ayudará a explicar cómo la química del néctar en función de la actividad de una enzima puede estar asociada con los sistemas de polinización.

En este estudio pretendemos documentar la composición del néctar, volumen, concentración, temperatura nectarial y actividad de la invertasa de 15 especies de la tribu Pachycereeae, teniendo las siguientes **hipótesis**:

1. Que en las especies con sistemas de polinización para murciélago el néctar sea rico o dominante en hexosas, mientras que en los sistemas de polinización de colibríes, esfíngidos y abejas el néctar sea rico o dominante en sacarosa.
2. Las especies que producen néctares con hexosas presenten una mayor actividad de la invertasa que aquellas donde se producen néctares con sacarosa.
3. Si la hidrólisis de la sacarosa aumenta la osmolalidad de una solución lo que a su vez incrementa el volumen y disminuye la concentración, se espera que los néctares con hexosas sean más abundantes que los de sacarosa.
4. Que la temperatura del nectario a la cual se colecta el néctar esté relacionada con la actividad de la invertasa.

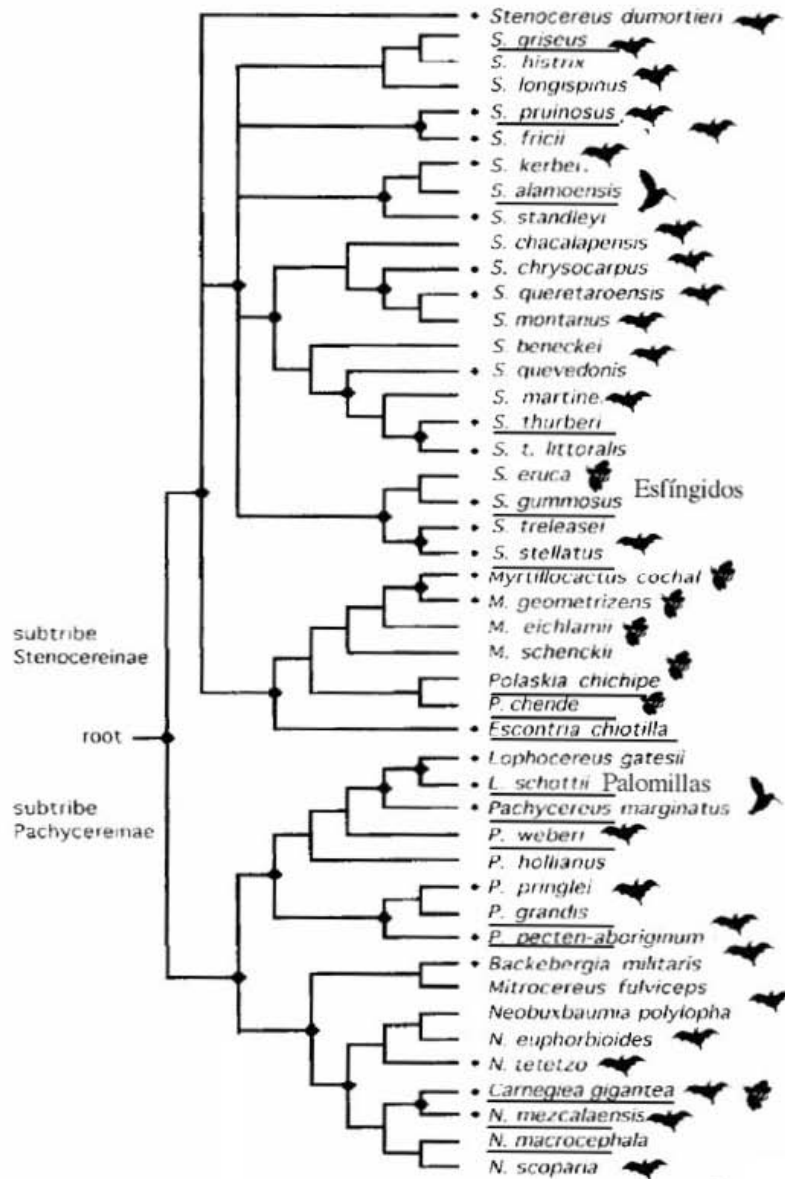
Para probar estas hipótesis se proponen los siguientes objetivos:

## **GENERAL**

Determinar la relación entre la composición química del néctar, el sistema de polinización y la actividad de las invertasas en diferentes especies de la tribu Pachycereae que presentan diferentes sistemas de polinización.

## **PARTICULARES**

- 1) Relacionar la composición de azúcares del néctar con los sistemas de polinización de las especies en estudio.
- 2) Determinar la actividad de la invertasa soluble alcalina y ácida e insoluble del tejido nectarial.
- 3) Relacionar la temperatura nectarial con la actividad de la invertasa.
- 4) Relacionar la concentración y volumen del néctar con la composición de azúcares y el sistema de polinización de cada especie.



**Figura 2.** Filogenia de la tribu Pachycereae. Tomada y modificada de Cornejo y Simpson (1997). El dibujo frente a cada especie representa el polinizador (ya estudiado) o posible polinizador de acuerdo a los síndromes de polinización de las flores. Las especies subrayadas son las que se estudiaron.

## MATERIAL Y METODOS

**Zona de estudio**— El estudio se llevó a cabo durante los meses de floración de las especies (Tabla 1).

**Tabla 1.**- Especies y meses durante los cuales se llevó a cabo la colecta de datos para el estudio. Los meses corresponden también a parte del periodo de floración de las especies.

Especie	2002	2003	2004
<i>P. grandis</i> Rose	Marzo		
<i>P. chichipe</i> (Rolan-Gosselin) Backeberg		Marzo	Abril
<i>P. chende</i> (Rolan-Gosselin) Backeberg		Marzo	
<i>N. macrocephala</i> (Weber y Schum)		Abril	
<i>N. mezcalaensis</i> (Bravo) Backeberg		Abril	
<i>S. stellatus</i> (Pfeiffer) Ricobuno		Junio	
<i>S. griseus</i> (Haw.) Buxbaum		Octubre	
<i>P. marginatus</i> (DC.) Berger y Buxbaum			Marzo
<i>P. weberi</i> (J.M. Coult) Backeberg		Marzo	Abril
<i>S. pruinusus</i> (Otto) Buxbaum		Abril	
<i>E. chiotilla</i> (Weber) Rose		Marzo	
<i>P. pecten-aboriginum</i> (Engelm.) Britton y Rose			Marzo
<i>S. alamosensis</i> (Coulter) Gibson y Horak			Mayo/Julio
<i>C. gigantea</i> (Engelm.) Britton y Rose			Mayo/Julio
<i>P. pringlei</i> (S. Watson) Britton y Rose	Febrero		
<i>L. schottii</i> (Engelm.) Hunt			Mayo/Julio
<i>S. gummosus</i> (Engelm.) Gibson y Horak			Mayo
<i>S. thurberi</i> (Brandeggee) Taylor			Mayo/Julio

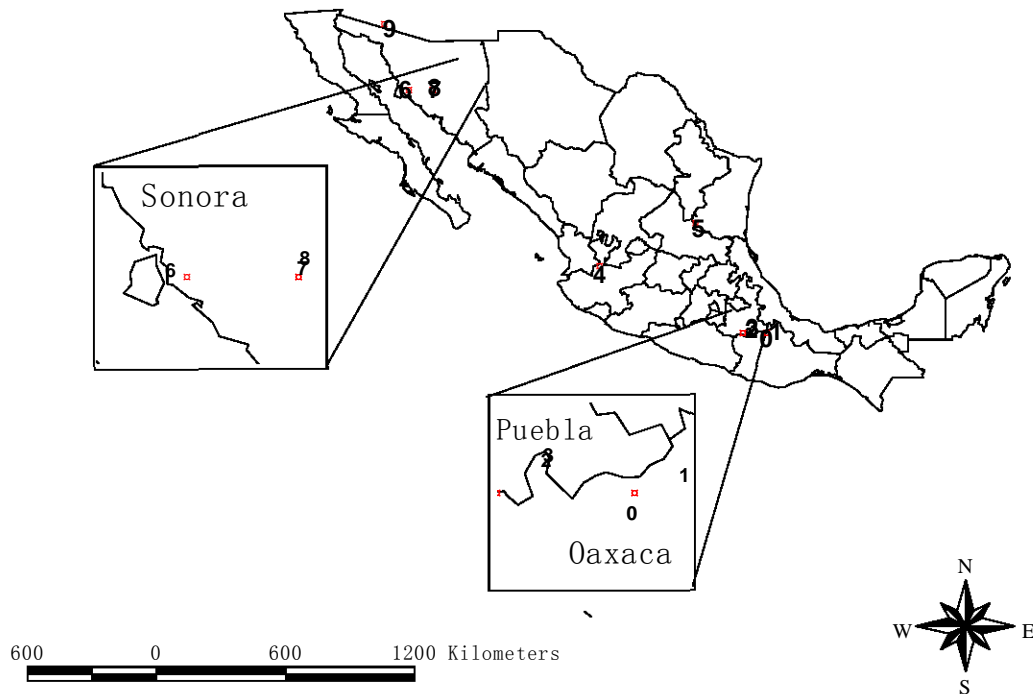


Las especies muestreadas se distribuyen en los estados de Sonora, Tamaulipas, Jalisco, Puebla y Oaxaca (Figura 3). En estos dos últimos estados se trabajó en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, situado en el centro-sur de México, entre los 17°39'; 18°53' Norte y los 96°55'; 97°44' W. Este Valle abarca una extensión de 10,000 Km<sup>2</sup>, con una altura máxima sobre el nivel del mar de 1700 m y una mínima de 900 m. En el sitio predominan tres tipos de clima: templado, semicálido y seco (Valiente-Banuet *et al.*, 2000), con una temperatura media anual de 21°C y la precipitación media anual de 495 mm (García, 1973). Por criterios estructurales y fisonómicos se han caracterizado 29 asociaciones vegetales. Las especies estudiadas en este sitio fueron: *Neobuxbaumia mezcalaensis*, *N. macrocephala*, *Polaskia chichipe*, *P. chende*, *Pachycereus marginatus*, *P. weberi*, *Escontria chiotilla* y *Stenocereus stellatus*.

En Sonora se realizaron colectas en diferentes localidades del desierto Sonorense (Figura 3). En este sitio predomina un clima muy seco, semicálido, con temperatura media anual entre 18 y 22°C, con porcentaje de lluvia invernal menor al 36% y con oscilación térmica anual extremosa, presentándose heladas en las zonas más al norte. Las especies vegetales que dominan en esta zona son las cactáceas columnares y las leguminosas. En esta región se estudiaron las especies *C. gigantea*, *L. schottii*, *S. alamosensis*, *S. gummosus* y *S. thurberi*.

En el desierto Chihuahuense el sitio de estudio se encuentra en las regiones áridas del suroeste del estado de Tamaulipas, en el municipio de Tula (22°87' N, 99°87' W) (Figura 3). En el sitio predominan suelos volcánicos donde se encuentran matorrales de cactáceas espinosos, como *Myrtillocactus geometrizans* y *Stenocereus griseus* (Martínez-Ávalos *et al.*, 2004). La especie que se estudió en el sitio fue *S. griseus*.

En el municipio de Juchitlán, estado de Jalisco, se estudió *P. pecten-aboriginum*. El lugar se encuentra 20°75'N y 103°59' W. Se caracteriza por presentar un clima semiseco. La temperatura media anual es de 21.5°C y una precipitación media anual de 622.7 mm. La vegetación es una selva baja caducifolia con vegetación secundaria arbórea, con elementos abundantes de *S. queretaroensis* y *P. pecten-aboriginum* ([www.elocal.gob.mx](http://www.elocal.gob.mx)).



**Figura 3.** Localización de las especies estudiadas. 0) *P. weberi*, *E. chiotilla*, *P. grandis*; 1) *P. chichipe*, *P. chende*; 2) *P. marginatus*, *S. pruinosus*; 3) *N. mezcalaensis*, *N. macrocephala*, *S. stellatus*; 4) *P. pecten-aboriginum*; 5) *S. griseus*; 6) *S. gummosus*, *C. gigantea*, *P. pringlei*; 7) *S. alamosensis*; 8) *S. alamosensis*, *S. thurberi*, *L. schotii*; 9) *C. gigantea*, *S. thurberi*.

**Floración**— Durante la noche y el día, según la antésis de cada especie, se tomaron muestras de tejido nectarial, néctar y medidas morfométricas de las flores. En general las especies con síndrome quiropterófilo (*N. mezcalaensis*, *N. macrocephala*, *C. gigantea*, *S.*

*thurberi*, *S. griseus*, *S. pruinosus*, *P. pecten-aboriginum*, *P. weberi*, *P. grandis*, *P. pringlei*) presentan flores grandes, robustas, con forma de campana, perianto blanco y en algunos casos rosado, un olor a humedad y su antésis es nocturna. Las especies polinizadas por abejas (*P. chichipe*, *E. chiotilla* y *P. chende*) tiene flores con antésis diurna, aunque *P. chichipe* en invierno abre sus flores en la madrugada. El tamaño de las flores puede variar, aunque en general son pequeñas, el color del perianto va de blanco (*P. chichipe*) a amarillo (*E. chiotilla*) y rosado (*P. chende*) y presentan un olor perfumado, parecido a las flores de naranjo (obs. pers.). Las flores de colibrí (*P. marginatus* y *S. alamosensis*) presentan un perianto rojo, un tubo floral estrecho, con una antésis, en *P. marginatus*, nocturna permaneciendo algunas flores abiertas hasta la 13:00 (Dar *et al.*, 2006), mientras que en *S. alamosensis* la antésis comienza en la madrugada (4:00 am) y las flores permanecen abiertas hasta las 12:00 pm. Las flores polinizadas por esfíngidos (*S. gummosus*) son tubulares, de color blanco o rosa pálido, con un olor dulce y su antésis es nocturna. Dentro de la tribu (*L. schottii*) presenta un polinización obligada con la palomilla *Upiga virescens* (Holland y Fleming, 1999), esta especie tiene flores pequeñas de antésis nocturna, el color del perianto es de color rosa y presentan un aroma dulce (obs. pers.).

**Composición de azúcares, volumen y concentración del néctar** — Con la finalidad de relacionar la concentración y el volumen con la composición de azúcares del néctar, y ésta a su vez, con los polinizadores potenciales se marcaron y cubrieron al azar, antes de la antésis, entre 15 y 30 botones florales (según la abundancia de flores en campo) dispuestas en diferentes individuos. A partir de la apertura de las flores se extrajo y se cuantificó el néctar en tres tiempos (antésis diurna o nocturna, media noche o medio día y amanecer o atardecer, según el caso) con una jeringa para insulina de 1 ml y una jeringa hipodérmica de 3 ml para

las especies que producen más de 1 ml. Para las especies que producen poco néctar (*E. chiotilla*, *P. chichipe*, *P. chende*, *L. schottii*, *S. alamosensis* y *P. marginatus*) se colectó el néctar acumulado para poder llevar a cabo el análisis quimiométrico.

El néctar de *P. pringlei* fue una donación del Dr. Francisco Molina del Instituto de Ecología en Hermosillo.

La cuantificación de los azúcares del néctar se llevó a cabo con un análisis químico que consistió en diluir el néctar 1:10 (100 µl de néctar por 900 µl de H<sub>2</sub>O) y se leyó en un espectrofotómetro FT Spectrum 2000 (Perkin Elmer, Boston, MA, USA) el porcentaje de transmitancia. El porcentaje de fructosa, glucosa y sacarosa en el néctar se determinó con los programas Spectrum y Quant + (Flores *et al.*, 2003). Se calculó para cada muestra, los porcentajes de glucosa, fructosa y sacarosa del peso total de azúcares (Tabla 2).

Basados en la composición de azúcares, el néctar fue asignado a una de dos clases: (1) néctares de sacarosa cuando el contenido de sacarosa fue igual a 33% (corresponde a las categorías “ricos en sacarosa” y “dominantes en sacarosa” según Baker & Baker 1983) o (2) néctares de hexosas cuando el contenido de sacarosa fue < 33% (corresponde a “ricos en hexosas” y dominantes en hexosas” según las categorías de Baker y Baker 1983).

La clasificación de las especies según su síndrome de polinización se determinó con un análisis de discriminantes canónicos (a partir del programa XLSTAT), en función de las variables creadas al tomar combinaciones lineales especiales de las variables originales. Las variables originales utilizadas fueron el volumen, la concentración y la proporción de sacarosa en el néctar. Para cada variable se ingresaron los datos colectados para todos los individuos de cada una de las especies. La F de Fisher asociada a los cuadrados de las distancias de Mahalanobis se utilizó para saber entre que grupos hay diferencias significativas.

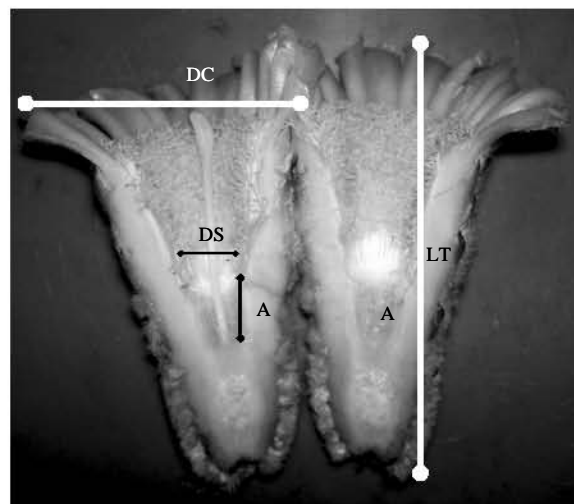
Los datos de volumen y proporción de sacarosa no se distribuyeron normalmente por lo que fueron transformados con raíz cuadrada y arcoseno respectivamente para el análisis de discriminantes.

En *P. chende*, *P. chichipe* y *E. chiotilla* los azúcares del néctar también fueron analizados por cromatografía de líquidos (HPLC), usando placas cubiertas con gel de silica G 60 (capas de 1 mm). En cada placa se aplicó por separado alicuotas (5  $\mu$ L) de estándares puros de glucosa, fructosa y sacarosa (contenían 10 $\mu$ g/mL) y una alicuota (1  $\mu$ L) de la muestra de néctar. Para eluir se utilizó una fase móvil de butanol:metanol:agua (6:4:1). Los componentes separados fueron visualizados con una mezcla de agua (4 mL), etanol (51 mL), ácido sulfúrico concentrado (6.5 mL) y  $\alpha$ -naftol (0.5 g). La suma de carbohidratos presentes en cada mancha sobre la placa se determinó por densitometría, usando un analizador de imágenes (Multimage Light Cabinet alpha Innotech San Leandro, CA, USA) que corre con el programa Alfaimager (Flores *et al*, 2003). En los resultados se muestran únicamente las gráficas de *P. chende*, para *P. chichipe* y *E. chiotilla* se muestran los análisis quimiométricos.

La concentración de azúcares (como porcentaje de equivalentes de sacarosa), se midió en ° Brix utilizando un refractómetro manual (American Optical No. 9103).

Con el objetivo de determinar la relación del volumen y concentración del néctar con la composición de azúcares, se agruparon las especies con dominancia de hexosas y aquellos donde predominó la sacarosa. Se comparó el volumen y la concentración del néctar entre estos dos grupos mediante una prueba de T-student.

**Morfometría** —Se midieron las flores a las que se les tomó muestra de néctar y tejido nectarial con el objetivo de poder determinar posibles diferencias entre el volumen de estas y la relación entre el volumen del nectario y la producción de néctar. Para el volumen de la flor se registraron los siguientes datos morfométricos: largo total (de la base del pericarpelo al extremo de la apertura de la corola) y el diámetro externo de la corola (medido en el ápice) (Figura 4). Con la fórmula de la paraboloides de revolución ( $V=1/2\pi r^2 h$  donde  $r$ =diámetro externo de la corola y  $h$ =largo total) se determinó el volumen. Se compararon los volúmenes entre las diferentes especies mediante una prueba Brown-Forysthe que no asume que hay homocedasticidad de la varianza. Para determinar cuáles eran las especies que diferían entre si, se realizó una prueba *post-hoc* de T3 de Dunnett. Para calcular el volumen de la cámara nectarial se tomaron las medidas diámetro superior (DS) y altura (A) de esta (Figura 4) y se uso la fórmula de la paraboloides de revolución ( $V=1/2\pi r^2 h$  donde  $r$ = diámetro superior y  $h$ =altura con). Para conocer la relación entre el volumen de la cámara nectarial y el volumen de néctar se llevó a cabo una regresión lineal.



**Figura 4.** Corte transversal de una flor de *P. pringlei* donde se muestran las medidas morfométricas colectadas para las diferentes especies estudiadas. LT=largo total; DC=diámetro externo de la corola (esta medida se tomaó antes de dividir la flor por la mitad); DS=diámetro superior; A=altuta

**Temperatura de la cámara nectarial**—La temperatura se tomó con un termómetro de bolsillo con indicador láser (OAKTON TempTestr). Las mediciones se realizaron apuntando hacia la cámara nectarial después de que la flor se dividió y quedó al descubierto el tejido nectarial. Con el objetivo de conocer cómo afecta la temperatura en la actividad de la invertasa se llevó a cabo un análisis de regresión lineal entre estas dos variables (Zar, 1984).

**Extracción de proteínas y actividad de la invertasa (E.C. 3.2.1.2.6)** —El tejido de la flor se colectó a la altura de la cámara nectarial y se mantuvo congelado en nitrógeno líquido, después se almacenó en un ultra congelador (-80° C). La actividad de la enzima se midió siguiendo el método descrito en Tang *et al.* (1996) y Fotopoulos *et al.*, (2003). Para extraer la proteína del tejido nectarial se tomó el tejido congelado y se pulverizó en un mortero con nitrógeno líquido, añadiendo entre 0.5 a 2 ml (según la especie) de un amortiguador de extracción que contenía: 50 mM de HEPES-NaOH (pH 8.0), 10 mM de MgCl<sub>2</sub>, 1 mM EDTA, 10 mM de dithiothreitol (DTT), 5 % de polivinil poli pilorridina (PVP), 1µl/ml de inhibidores de proteasas (Boheringer Ingelheim) y 0.02% de tritón. El homogenizado se centrifugó a 13,000 g por 15 minutos a 4°C, el sobrenadante contenía la invertasa de vacuola (soluble ácida) y citoplasma (soluble alcalina). Para obtener la invertasa de pared (ácida insoluble), se lavó el botón tres veces con el amortiguador de extracción y en el último lavado se utilizó el mismo amortiguador pero con (1M) cloruro de sodio. Los tres extractos (invertasa de vacuola, citoplasma y de pared) se pasaron por una columna MicroSpin G-50 de 1.5 mL (Amershan Biosciences) para desalar (invertasa de pared) y eliminar las moléculas de alto peso molecular como polisacáridos. La proteína del tejido soluble e insoluble se estimó de acuerdo con el método de Bradford (Bradford, 1976) usando como proteína estándar la albumina (BSA).

La actividad de la invertasa se cuantificó utilizando de 20 a 100  $\mu\text{g}$  del extracto según la especie (*N. macrocephala*  $95 \pm 2.88$ , *N. mezcalaensis*  $90.33 \pm 16.74$ , *P. pecten-aboriginum*  $71.6 \pm 2.88$ , *C. gigantea*  $86.6 \pm 23.09$ , *S. alamosensis*  $53.3 \pm 11.54$ , *L. schottii*  $48.3 \pm 44.7$  y *S. gummosus*  $33 \pm 13.88$ ), el cual se incubó durante 1 hora a  $37^\circ\text{C}$  con un amortiguador de 50 mM de fosfatos-citrato (pH 4.5) y 100 mM de sacarosa en un volumen total de 200  $\mu\text{l}$ . La reacción se detuvo utilizando 250  $\mu\text{l}$  de 500 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (pH 4.5 para invertasas ácidas y pH 7 invertasas alcalinas) y se le añadió 500  $\mu\text{l}$  de DNSa (44 mM de 3,5-Dinitrosalicílico (DNS), 250 mM NaOH, 21 mM fenol y 4 mM de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ). La mezcla se incubó a  $100^\circ\text{C}$  por 15 minutos, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se le agregó 500  $\mu\text{l}$  de tartrato de sodio y potasio al 40%. La absorbancia se leyó a 540 nm en un espectrofotómetro Varian Cary 50. La actividad de la invertasa se dio en mg glucosa por mg proteína<sup>-1</sup> por min<sup>-1</sup>.

Para analizar las diferencias de la actividad de la invertasa entre las especies estudiadas se utilizó una ANDEVA, posteriormente el análisis de comparaciones múltiples de Tukey HSD definió entre cuáles especies habían diferencias significativas. Para cumplir con la simetría de la varianza los datos se transformaron con raíz cúbica; los datos reales se usaron para la gráfica de la actividad de la invertasa.



## RESULTADOS

**Composición de azúcares en el néctar**— Existe una división entre las especies que producen néctar de hexosas y las de sacarosa; la única especie intermedia fue *P. marginatus*, la cual, aunque le corresponde la categoría de néctar “rico o dominante en sacarosa” el porcentaje de hexosas en su néctar es muy cercano al de la sacarosa (Tabla 2). También se aprecia que la composición de azúcares se relaciona con los síndromes de polinización. Los néctares “ricos o dominantes en hexosas” concuerdan con las especies que presentan un síndrome de polinización por murciélagos, mientras que los “ricos o dominantes en sacarosa” se encuentran entre las especies con síndrome de polinización por colibríes e insectos.

**Tabla 2.** Porcentaje de glucosa, fructosa y sacarosa ( $\chi \pm$  E.E.) en el néctar de las especies estudiadas.

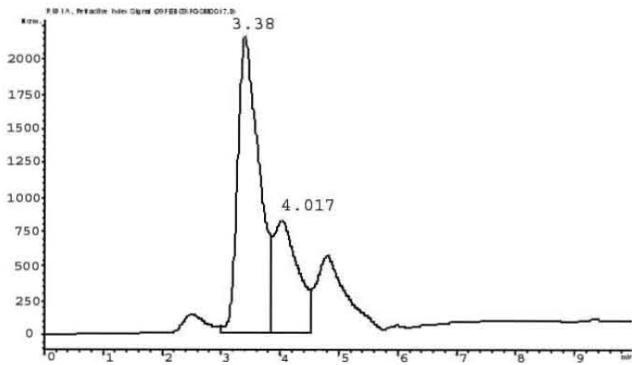
Especies	Síndrome * de polinización	Muestras analizadas	Num. de flores/ Num. de individuos	Fructosa (%)	Glucosa (%)	Sacarosa (%)	Tipo*** de néctar
<i>N. mezcalaensis</i>	M	27	27/11	40.39 $\pm$ 3.07	51.04 $\pm$ 2.52	8.56 $\pm$ 2.71	H
<i>N. macrocephala</i>	M	22	22/3	45.45 $\pm$ 2.43	49.41 $\pm$ 2.18	5.12 $\pm$ 1.43	H
<i>S. griseus</i>	M	18	18/13	49.35 $\pm$ 1.69	45.34 $\pm$ 1.43	5.29 $\pm$ 2.97	H
<i>P. grandis</i>	M	19	19/6	37.96 $\pm$ 4.28	52.35 $\pm$ 2.15	9.67 $\pm$ 3.24	H
<i>P. pecten-aboriginum</i>	M	52	52/5	52.45 $\pm$ 0.69	49.59 $\pm$ 0.84	-2.04 $\pm$ 1.25	H
<i>S. stellatus</i>	M	23	23/12	44.61 $\pm$ 0.71	45.90 $\pm$ 0.96	9.48 $\pm$ 1.10	H
<i>S. pruinosus</i>	M	5	5/2	40.82 $\pm$ 1.77	35.6 $\pm$ 3.47	23.54 $\pm$ 4.98	H
<i>P. weberi</i>	M	27	27/9	51.21 $\pm$ 1	48.21 $\pm$ 1.51	0.57 $\pm$ 2.08	H
<i>S. thurberi</i>	M	34	34/10	51.94 $\pm$ 1.28	47.50 $\pm$ 1.08	0.55 $\pm$ 1.93	H
<i>P. pringlei</i>	M	27	27/7	55.48 $\pm$ 0.96	52.28 $\pm$ 1.16	-7.77 $\pm$ 1.73	H
<i>C. gigantea</i>	M	48	48/11	46.11 $\pm$ 1.13	44.33 $\pm$ 1.64	9.55 $\pm$ 2.39	H
<i>S. alamosensis</i>	C	21	21/14	15.18 $\pm$ 1.12	6.67 $\pm$ 1.21	78.14 $\pm$ 1.79	S
<i>P. marginatus</i>	C	19	19/8	33.08 $\pm$ 2.29	30.72 $\pm$ 1.85	36.18 $\pm$ 3.25	S
<i>P. chichipe</i>	A	3	12*/2	-17.87 $\pm$ 2.43	7.99 $\pm$ 1.32	109.88 $\pm$ 1.95	S
<i>E. chiotilla</i>	A	12	12/8	9.48 $\pm$ 1.40	10.45 $\pm$ 1.05	80.01 $\pm$ 2.05	S
<i>L. schotti</i>	P	3	10*/3	19.49 $\pm$ 2.34	20.31 $\pm$ 3.22	60.19 $\pm$ 5.56	S
<i>S. gummosus</i>	E	12	12/12	18.03 $\pm$ 2.93	1.16 $\pm$ 2.49	80.80 $\pm$ 4.05	S

\*Síndromes de polinización. Abreviaciones: murciélago (M), colibrí (C), abeja (A), palomilla (P), esfíngido (E).

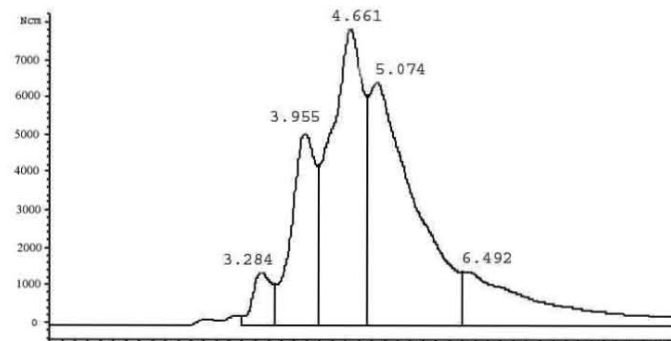
\*\*Indica que el néctar de varias flores fue puesto en la misma muestra a analizar

\*\*\*Tipo de néctar: S = néctar de sacarosa (% sacarosa = 33%), H = néctar de hexosas (% sacarosa < 33%).

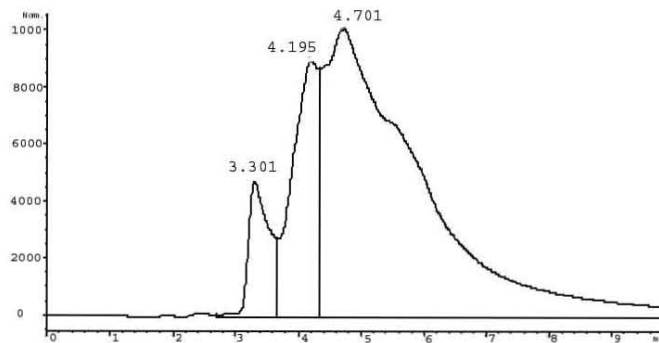
Las muestras de néctar obtenidas de las flores de *Polaskia chende* se analizaron por cromatografía de líquidos (HPLC). Todas presentaron un néctar con un contenido de sacarosa, glucosa, fructosa u otro azúcar no determinado. En la muestra 1 la sacarosa estuvo más concentrada que la fructosa. En la muestra 2 la sacarosa fue menos concentrada en relación con la fructosa y glucosa y además hubo retención de otros azúcares. En las muestras 3 y 4 la sacarosa se presentó menos concentrada, en la primera en relación a la fructosa y la glucosa, mientras que en la última en proporción a otros azúcares (figura 5).



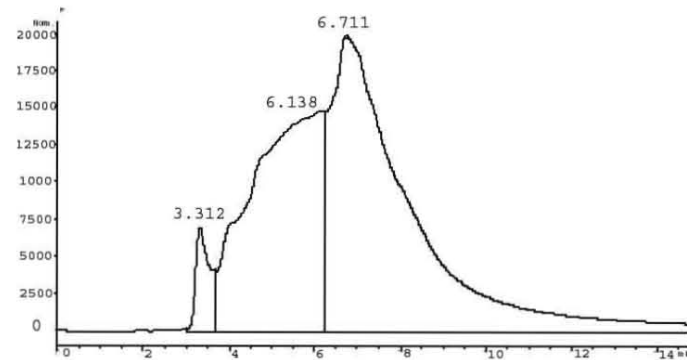
1



2



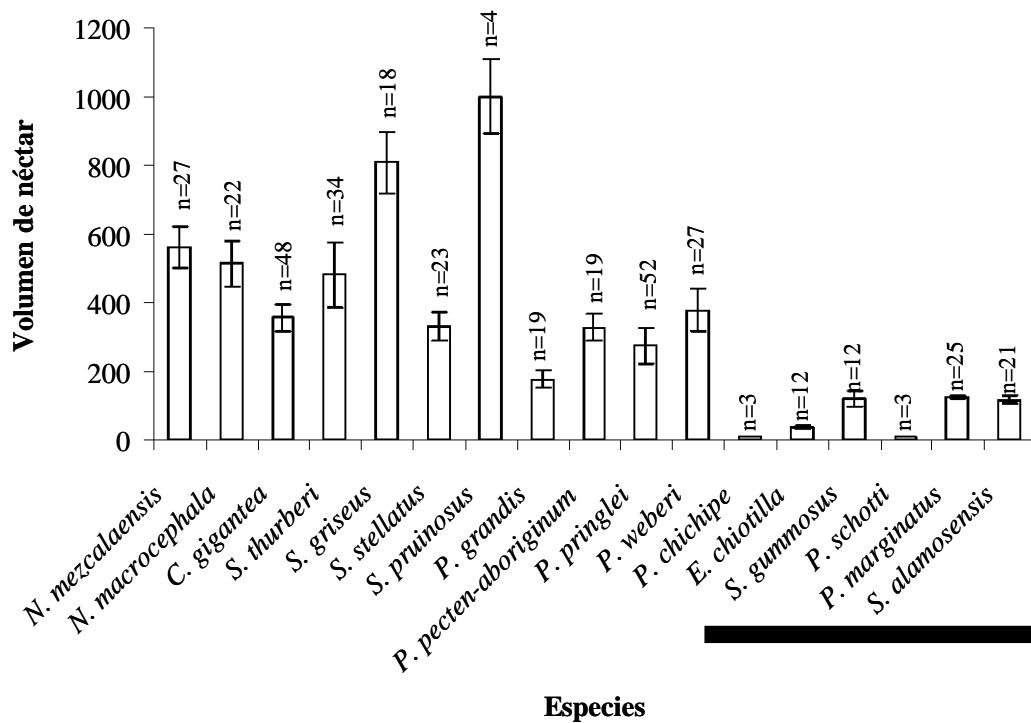
3



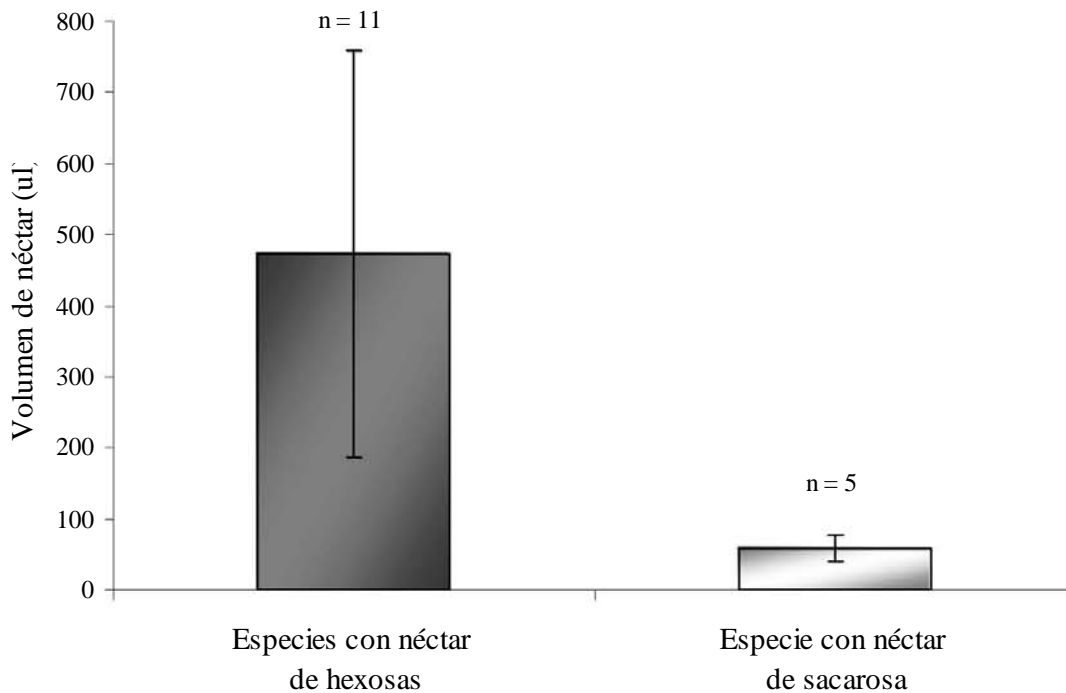
4

Figura 5. Muestras analizadas en HPLC de *P. chende*. Los números en los picos de la curva, muestran los tiempos de retención de los azúcares. Muestra 1 (sacarosa 3.38, fructosa 4.017); muestra 2 (sacarosa 3.284; glucosa 3.955; fructosa; 4.661) ; muestra 3 (sacarosa 3.301; glucosa 4.195; fructosa;4.707); muestra 4 (sacarosa 3.312).

**Volumen y concentración del néctar**— De todas las especies analizadas las que tuvieron mayor producción de néctar fueron *S. pruinosus* y *S. griseus* con 1000.00  $\mu\text{l}$  (E.E.  $\pm$  106.06; N=4) y 808.33  $\mu\text{l}$  (E.E.  $\pm$  89.92; N=18), mientras que *L. schottii* y *P. chichipe* (figura 6) tuvieron la producción más baja de néctar (10  $\mu\text{l}$   $\pm$  0.01 N=3). Agrupando las especies de acuerdo al tipo de azúcares en el néctar se observa que donde predominaron las hexosas el volumen de néctar es significativamente mayor que en las especies con sacarosa (g.l. 12,029; t=5,356; P < 0.001, la prueba que se utilizó asume que no hay homocedasticidad de la varianzas) Ver figura 7.

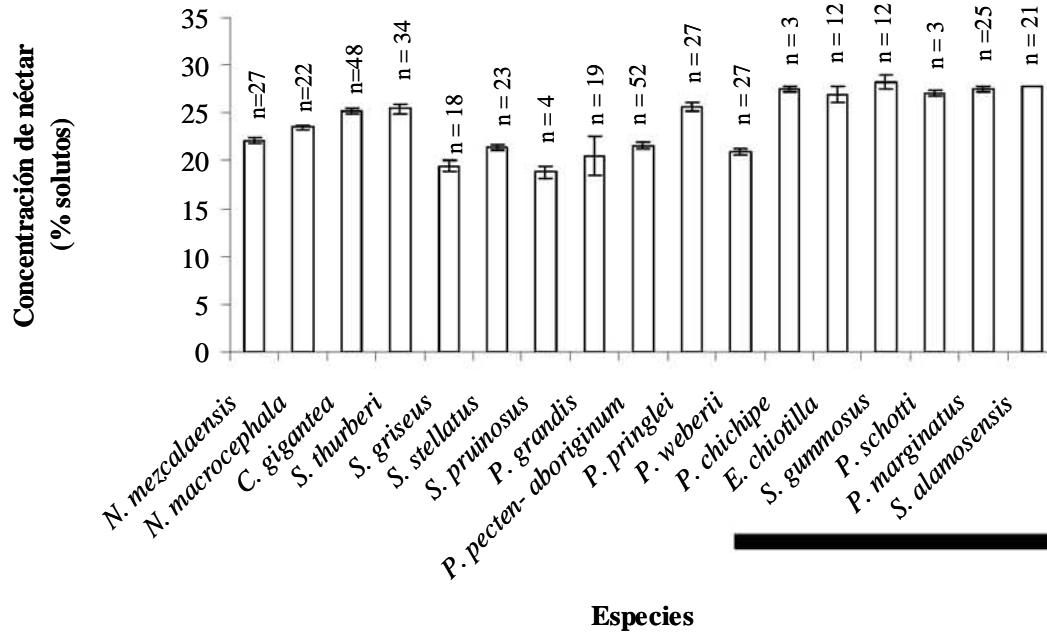


**Figura 6.** Producción de néctar ( $\mu\text{l}$ ) acumulado en las diferentes especies estudiadas. Los datos son promedios ( $\pm$  E.E.). La barra negra indica a las especies con menor volumen.

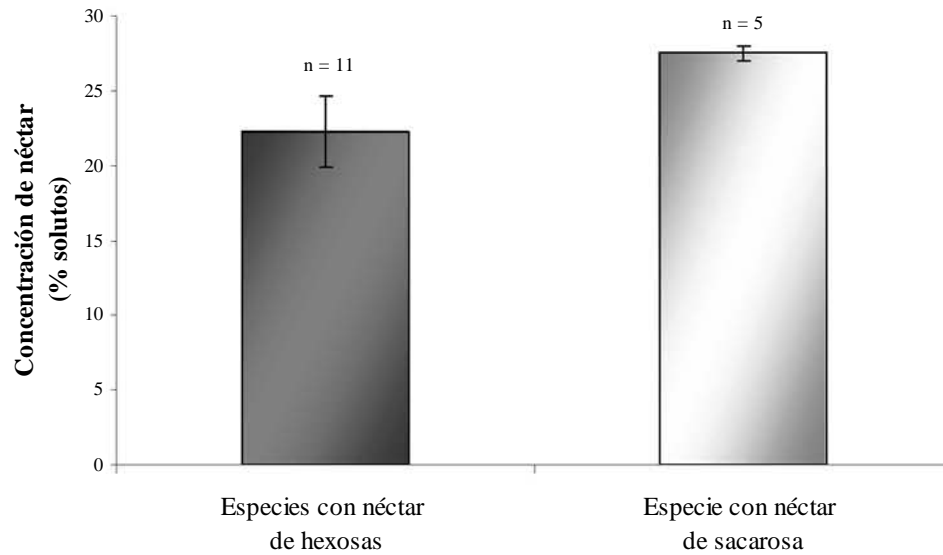


**Figura 7.** Volumen de néctar de especies con néctar de hexosas y de sacarosa. Las barras representan el promedio ( $\pm$  D.E.).

Las especies con porcentajes más altos de azúcares fueron *E. chiotilla*, *P. chichipe*, *P. marginatus*, *S. gummosus*, *S. alamosensis* y *L. schottii* ( $26.925 \pm 2.81$ ;  $27.5 \pm 0.5$ ;  $27.5 \pm 1,32$ ;  $28,216 \pm 2,24$ ;  $27.75 \pm 3.18$ ;  $27.14 \pm 0.5$  respectivamente). Las especies restantes presentaron concentraciones menores a 25° Brix (Figura 8). Cuando se agruparon las especies según su composición de azúcares las especies con hexosas tuvieron una concentración significativamente menor que las especies con sacarosa (g.l. 14;  $t = -4.82$ ;  $P < 0.001$ ) Figura 9.



**Figura 8.-** Concentración total de solutos (sacarosa) de las especies estudiadas. Los datos son promedio ( $\pm$  E.E.). La barra negra indica a las especies con concentración más elevada.



**Figura 9.** Concentración total (porcentaje de sacarosa) de las especies estudiadas agrupadas según la composición de azúcares en su néctar. Se muestran los promedios ( $\pm$  D.E.).

En aquellas especies en donde fue posible registrar la producción de néctar y concentración durante la antésis, se observa para la mayoría de ellas, un patrón en donde ha medida que aumenta la cantidad del néctar, aumenta la concentración; sin embargo, *S. griseus* aumenta su concentración cuando alcanza la producción de néctar más baja. También se muestra que en las especies con flores de antésis nocturna existe mayor producción de néctar a la media noche, no obstante, *S. stellatus*, *S. griseus*, *S. thurberii* y *S. pruinosus* produjeron más néctar durante las primeras horas de la mañana. En *C. gigantea*, especie cuyas flores pueden permanecer abiertas hasta la 01:00 pm, no presentó diferencias en cuanto a la concentración y el volumen producido entre la noche y la mañana (Figura 10).

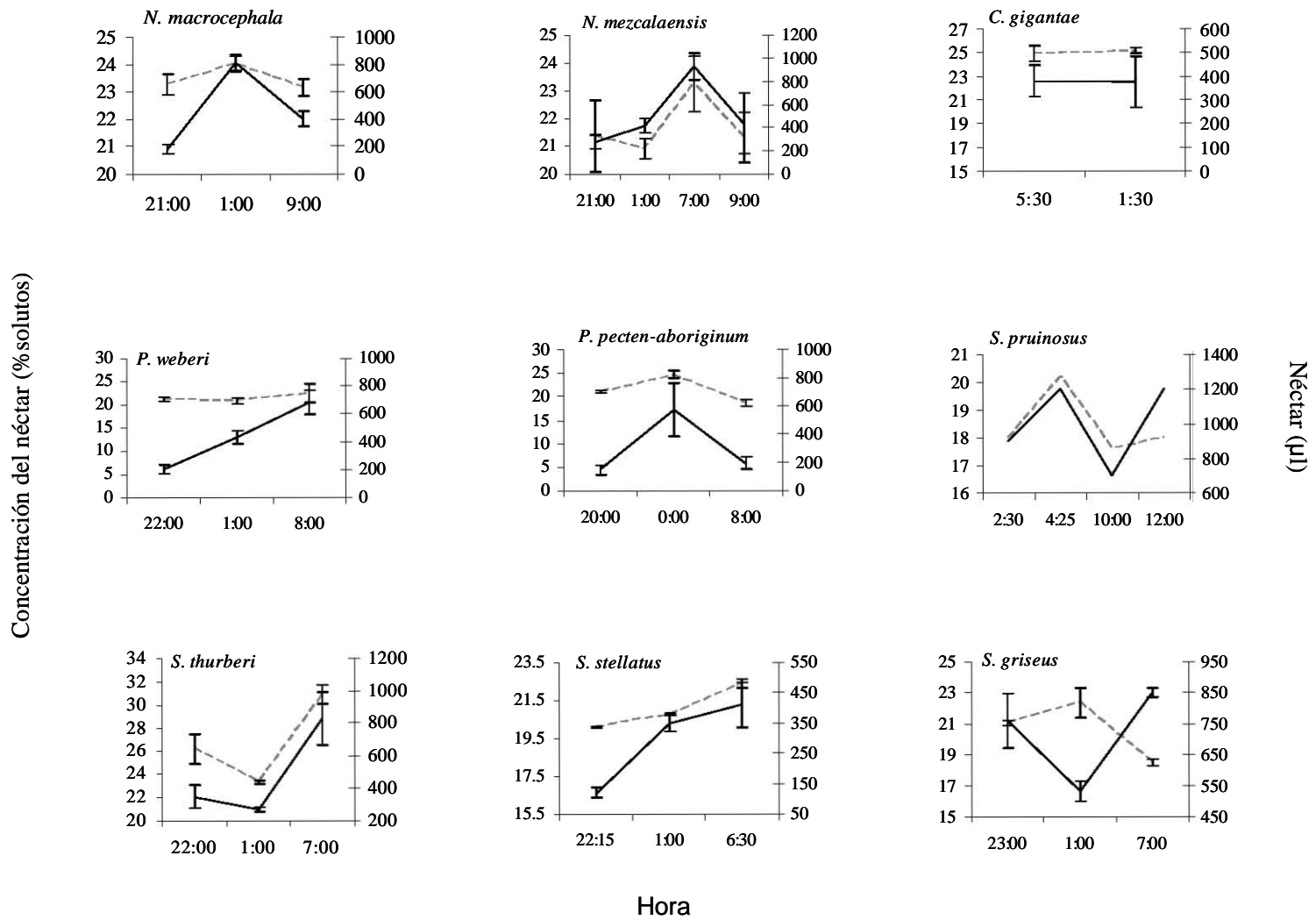
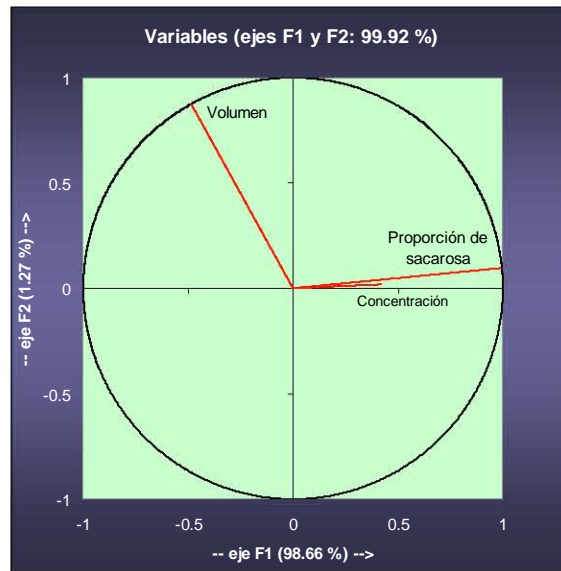


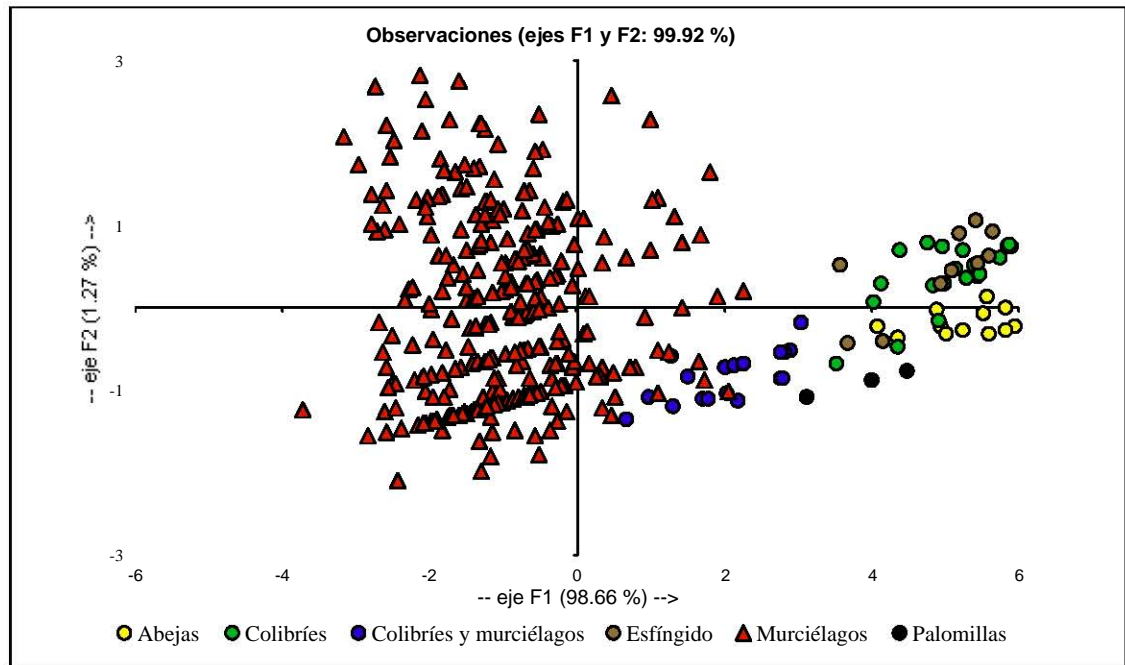
Figura 10. Concentración (---) y volumen (—) del néctar ( $\chi \pm EE$ ) producido en diferentes tiempo en algunas especies estudiadas de la tribu Pachycereae



**Análisis de discriminantes canónicos**— Usando las variables explicativas proporción de sacarosa, volumen y concentración del néctar, el análisis de discriminantes canónicos separó las especies agrupadas según su síndrome de polinización (otorgado *a priori*). El análisis discriminó entre las especies en función de dos ejes que creó a partir de la información de las variables explicativas. Estos ejes explican el 98.66 % (función discriminante 1) y el 1.27 % (función discriminante 2) del total de la variación respectivamente. La figura 11 presenta la correlación entre los ejes y las variables explicativas. El vector más largo en la dirección horizontal indica que la variable explicativa correspondiente (proporción de sacarosa) está altamente correlacionada con la función discriminante 1 (F1). Lo mismo ocurre para el vector que corre en dirección vertical (volumen) y la función discriminante 2 (F2). La dirección y la longitud de los vectores se pueden relacionar con la posición del grupo (círculos de colores) que se representa en la figura 12. Los triángulos rojos representan el grupo con síndrome de polinización por murciélagos, el néctar de las especies agrupadas en este síndrome fueron ricos en glucosa y fructosa y se ubicaron a la izquierda del eje horizontal (F1), mientras que las especies agrupadas en el síndrome de polinización por abejas, palomillas, esfíngidos y colibríes (círculos amarillos, verdes, negros, azules y cafés), con néctares ricos y dominantes de sacarosa están en la parte derecha del eje; en la intersección entre los dos grupos se ubicó *P. marginatus* (círculos azules). Esta especie que es polinizada tanto por colibríes como por murciélagos (Dar *et al.*, 2006) presenta un néctar de sacarosa con abundantes hexosas (tabla 2).



**Figura 11.** Se muestra como las tres variables explicativas iniciales están correlacionadas con los dos factores obtenidos. La función canónica F1 está correlacionada con la proporción de sacarosa y la concentración y la F2 con el volumen del néctar.



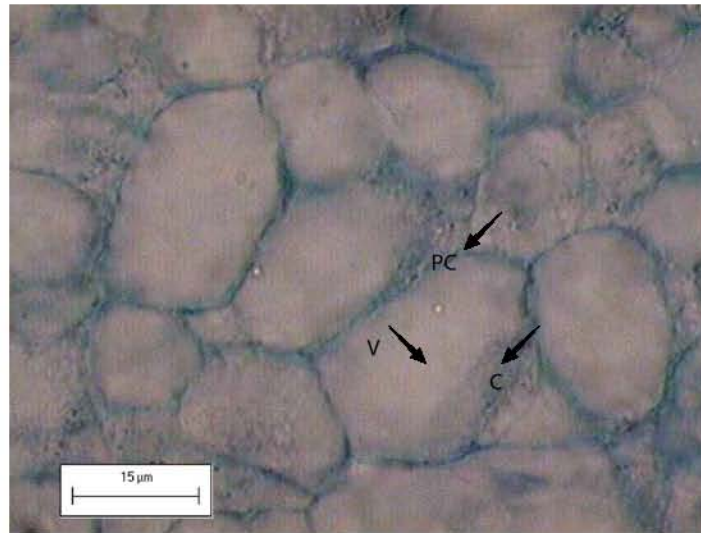
**Figura 12.** Análisis discriminantes canónicos que muestra la serie de datos sobre los ejes de las funciones canónicas. Se puede apreciar que los datos están correctamente discriminados sobre los ejes obtenidos a partir de las variables explicativas iniciales.

Las especies agrupadas en el síndrome de polinización por murciélagos son significativamente distintas a los otros grupos ( $P \geq 0.05$ ). Las especies agrupadas en los síndromes de colibríes, abejas y esfíngidos resultaron ser significativamente distintas de la especie que es polinizada por murciélagos y colibríes ( $P \geq 0.05$ ). La especie con sistema de polinización obligada con la palomilla *U. virens* presentó sólo diferencia significativa con el grupo de los murciélagos ( $P \geq 0.05$ ) (Tabla 3).

**Tabla 3.** Valores de la F de Fisher asociados a los cuadrados de las distancias de Mahalanobis entre grupos.

	Abejas	Colibríes	Colibríes y murciélagos	Esfíngidos	Murciélagos	Palomillas
Abejas	0	1.891	<b>36.976</b>	1.223	<b>203.044</b>	2.600
Colibríes	1.891	0	<b>35.777</b>	0.133	<b>234.616</b>	2.352
Colibríes y murciélagos	<b>36.976</b>	<b>35.777</b>	0	<b>29.401</b>	<b>53.016</b>	3.144
Esfíngido	1.223	0.133	<b>29.401</b>	0	<b>148.233</b>	2.426
Murciélagos	<b>203.044</b>	<b>234.616</b>	<b>53.016</b>	<b>148.233</b>	0	<b>24.160</b>
Palomillas	2.600	2.352	3.144	2.426	<b>24.160</b>	0

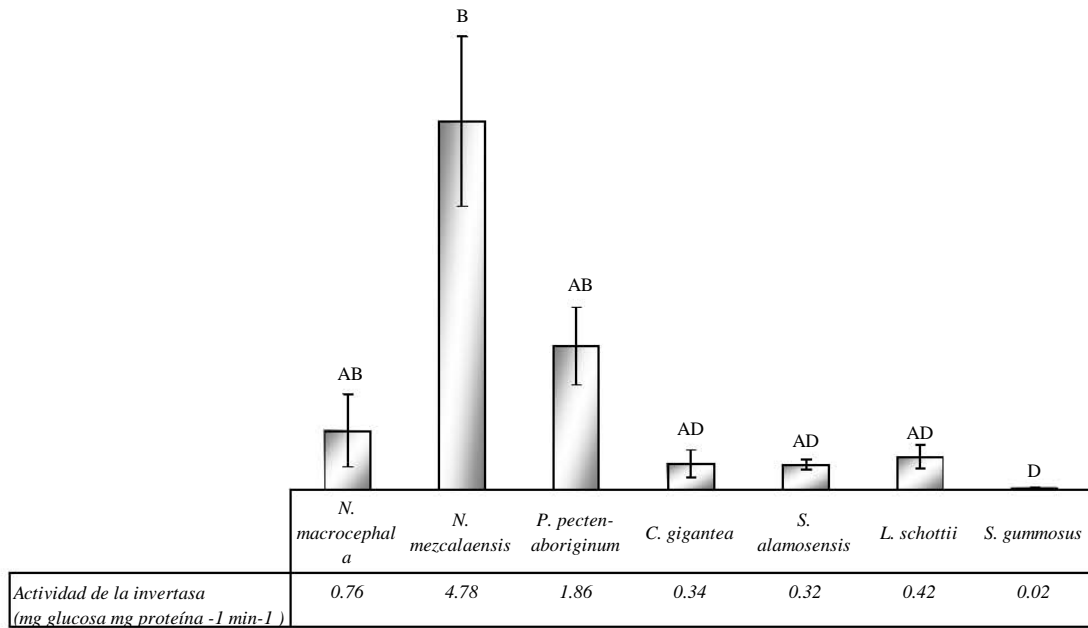
**Actividad de la invertasa**— Las tres formas de invertasa se encontraron en la célula activas; sin embargo, en la mayoría de las especies analizadas se extrajo mayor concentración de proteína soluble ácida en relación a la proteína soluble alcalina e insoluble, ésta última pudo haber disminuido en la concentración debido a los lavados que se dieron al botón después de la centrifugación. La extracción más eficiente, en cuanto a las invertasas solubles ácidas, pudo haberse debido a que en el momento de la extracción del tejido nectarial, las vacuolas dentro de las células del nectario aumentan considerablemente y es en este organelo es donde hay una mayor cantidad de la enzima (Sturm y Tang, 1999) (Figura 13).



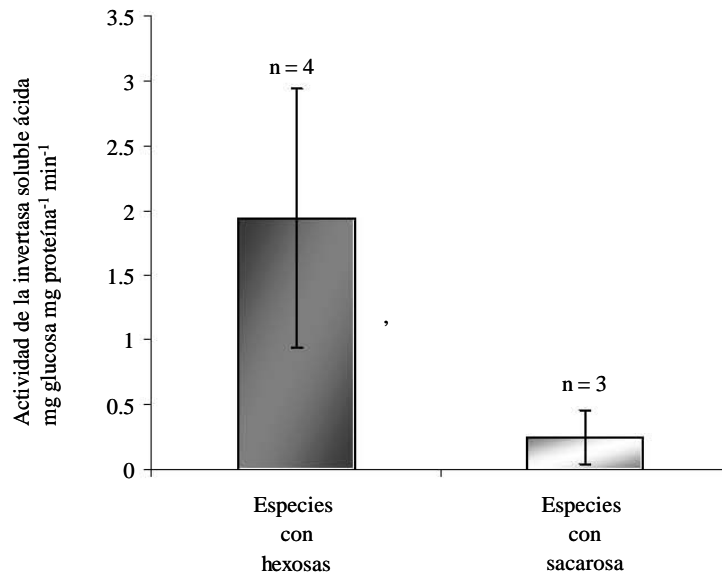
**Figura 13.** Fotografía de microscopio óptico (100x) de células del tejido nectarial de *N. mezcalaensis*. En las células se observa el desplazamiento del citoplasma (C) por la vacuola (V) hacia la pared celular (PC).

Los resultados que se muestran son los de la actividad de la invertasa soluble ácida. Dentro de las especies a las cuales se pudo medir ésta, *N. mezcalaensis* presentó el nivel de actividad más alto con  $4,78 \text{ mg glucosa mg proteína}^{-1} \text{ min}^{-1}$  (D.E.  $\pm 1.11$ ; N=3) y *S. gummosus* tuvo la actividad más baja con un promedio de  $0.02 \text{ mg glucosa mg proteína}^{-1} \text{ min}^{-1}$  (D.E.  $\pm 0.01$ ; N=3). El promedio de la actividad de la invertasa por especie difirió significativamente ( $F_{6, 22} = 10.648$ ;  $P < 0.0008$ ). La Figura 14 muestra las diferencias entre las especies.

Si se agrupan las especies de acuerdo con el tipo de néctar podemos observar que las especies con hexosas tienen una actividad de invertasa mayor que las de sacarosa (Figura 15).

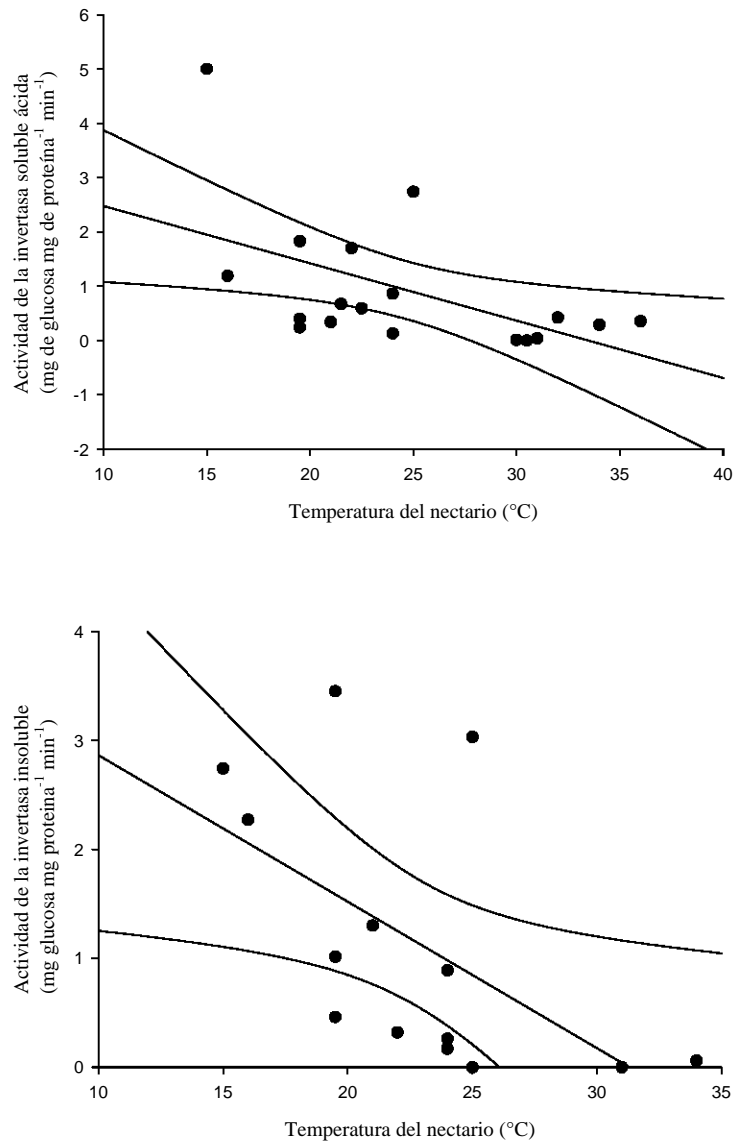


**Figura 14.** Actividad promedio de la actividad de la invertasa ( $X \pm E.E.$ ). Barras con letras iguales indican que no difieren significativamente las especies ( $P \geq 0.0008$ ).



**Figura 15.** Diferencia en la actividad promedio de la invertasa en especies con néctares de hexosas y de sacarosa.

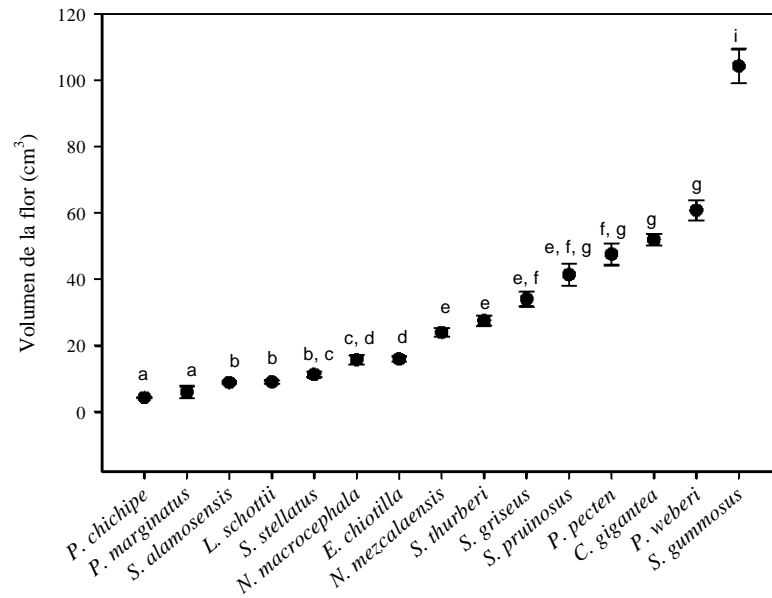
**Temperatura de la cámara nectarial--** La temperatura de la cámara nectarial presentó una relación negativa con la actividad de la invertasa insoluble y soluble ácida ( $R^2 = 0.32$ ;  $F_{1,13} = 5.772$ ;  $P = 0.033$  y  $R^2 = 0.27$ ;  $F_{1,17} = 6.029$ ;  $P = 0.026$  respectivamente) (Figura 16).



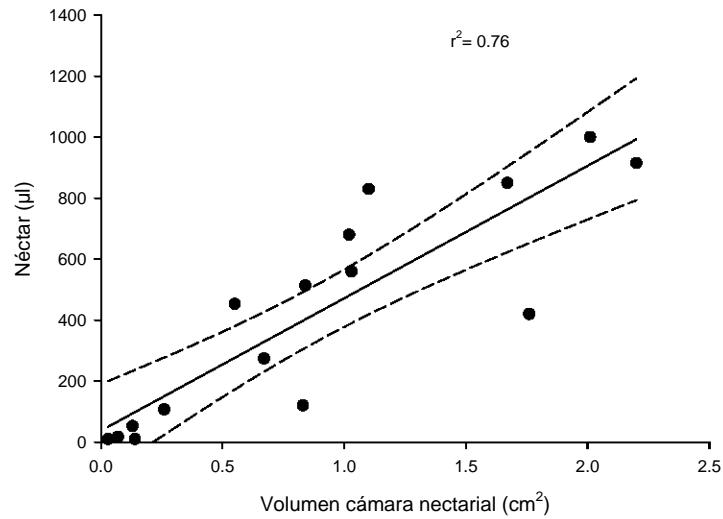
**Figura 16.** Relación entre las actividades de las invertasas ácidas (soluble e insoluble) con la temperatura a la cual se colectó el tejido nectarial.

**Morfología.**- El volumen de las flores fue variable habiendo diferencias significativas entre las especies ( $F_{14, 62.08} = 181.09$ ;  $P < 0.001$ ) (Figura 17). *S. gummosus* es la especie que presenta las flores más grandes y difiere significativamente de todas las demás. Esta especie se identifica por presentar el tubo de la corola alargado y angosto (ver figura 19), característico de las especies polinizadas por esfíngidos. Las especies de mayor tamaño (después de *S. gummosus*) incluyen desde *P. weberi* hasta *N. mezcalaensis*, y aunque existen diferencias significativas entre algunas de ellas, todas son polinizadas por murciélagos. Las que siguen en la escala de tamaño pertenecen al grupo de síndrome de polinización por insectos y colibríes, excepto *N. macrocephala* y *S. stellatus* que son polinizadas principalmente por murciélagos (Casas *et al.*, 1999; Valiente-Banuet *et al.*, 1997a).

El tamaño de la cámara nectarial está positivamente relacionado con el volumen de néctar ( $R^2 = 0.76$ ;  $F_{1,15}$ ;  $P < 0.001$ ) (Figura 18).



**Figura 17.** Volumen de las flores de las especies estudiadas. Los valores son promedio ( $\pm$  E.E.). Las letras iguales indican que no difieren significativamente las especies.



**Figura 18.** Relación entre el volumen de la cámara nectarial y el promedio de néctar producido por flor de las especies estudiadas.





**Figura 19.** Imágenes de algunas de las especies estudiadas (excepto la 6 todas son de la autora)  
1) *S. alamosensis*; 2) *P. marginatus*; 3) *L. schottii*; 4) *E. chiotilla*; 5) *S. gummosus*; 6) *P. chende*;  
7) *N. mezcalaensis*; 8) *C. gigantea*; 9) *S. thurberi*.

## DISCUSIÓN

Las observaciones de Darwin sobre las interacciones entre las plantas y sus polinizadores llevaron al entendimiento de que una de las principales formas de diversificación dentro de las angiospermas ha sido por medio de la presión de selección que pueden ejercer los polinizadores a través de su eficiencia y calidad sobre una característica o grupo de características relacionadas con la reproducción de la especie (Stebbins, 1970). Si esta presión se dirige hacia una recompensa recíproca entre la planta y el polinizador, entonces se esperaría la evolución de un sistema de polinización especialista, es decir en donde la flor proporciona una recompensa adecuada al polinizador más eficiente. Sin embargo, diversos autores (ej. Herrera, 1988; Waser *et al.*, 1996) argumentan que la predecibilidad espacio-temporal del polinizador efectivo es una condición necesaria para que esto ocurra. En caso contrario la presión de selección ejercida por éste se debilitaría y numerosos polinizadores taxonómicamente diversos podrían estar interactuando con las plantas y generar sistemas generalistas (Herrera, 1988; Horvitz y Schemske, 1990).

En la familia Cactaceae existen numerosos estudios que indican que las interacciones planta-polinizador han derivado en sistemas de polinización especialista, para géneros como *Opuntia* con abejas, *Rathbunia*, *Peniocereus*, *Nopalea* con colibríes (Gibson y Nobel, 1984), esfíngidos en *Epiphyllum*, *Cereus*, *Trichocereus*, *Acanthocereus* y *Selenicereus* (Grant y Grant, 1979) y con murciélagos en la mayoría de los géneros agrupados en la tribu Pachycereeae (Valiente-Banuet *et al.* a y b, 1997; Petit & Freeman, 1997). El resultado de estas interacciones especialistas es que muchas especies presenten flores de longitudes, formas y colores específicos (Gibson y Nobel, 1984). Así mismo, se ha visto que algunas especies de cactáceas columnares con síndrome de polinización por murciélagos tienen un néctar cuya

composición de azúcares es de hexosas (Scogin, 1985; Petit & Freeman, 1997; Santos, 2002). Sin embargo, poco se sabe de las especies que presentan síndrome de polinización por colibríes, esfíngidos y abejas (Scogin, 1985).

Los resultados de este estudio muestran que existe una concordancia entre el síndrome de polinización y la composición de azúcares en el néctar. *N. mezcalaensis*, *N. macrocephala*, *P. pringlei*, *P. weberi*, *P. pecten-aboriginum*, *C. gigantea*, *Stenocereus griseus*, *S. pruinosus*, *S. thurberi* y *S. stellatus* con síndrome de polinización por murciélago tienen un néctar de hexosas, mientras que *E. chiotilla*, *Polaskia chichipe*, *P. chende*, *S. gummosus*, *S. alamosensis* y *P. marginatus* con síndrome de polinización por abejas, esfíngidos y colibríes respectivamente tuvieron néctares de sacarosa. Las categorías sugeridas por Baker & Baker (1983) sobre la composición de azúcares en el néctar y el tipo de polinizadores concuerdan con los resultados de las especies estudiadas.

Una de las preguntas centrales del estudio, fue saber si la composición de azúcares estaba relacionada con la actividad de las invertasas en el nectario, tal como se ha venido planteando en los últimos años (Nicolson, 1998; Nicolson, 2002 y Shondube & Martínez del Rio, 2003). Los resultados sugieren una posible relación con la composición de azúcares del néctar en las especies en las cuales se cuantificó la actividad de la invertasa ácida soluble. La actividad más alta se encontró en *N. mezcalaensis*, especie con un néctar compuesto de hexosas, mientras que *S. gummosus*, que presenta un néctar de sacarosa, tuvo la actividad más baja. En las otras especies con néctares de hexosas la actividad fue más baja que en *N. mezcalaensis*, y sólo en *C. gigantea* fue similar a la de las especies con néctar de sacarosa. Debido a que en algunas no se encontraron diferencias significativas en la actividad de la invertasa vacuolar, es necesario realizar en estudios posteriores la medición de la actividad de la invertasa ácida insoluble, ya que esta podría estar contribuyendo, aún más que la actividad

vacuolar, al cambio en concentración y tipo de carbohidratos en el nectario. Por lo que se sugiere aumentar el tamaño de muestra para verificar si esta tendencia se mantiene.

Las medidas de la actividad de la invertasa en otras especies coinciden con nuestros resultados. Por ejemplo, en frutos de jitomate silvestre (*Lycopersicon chmielewskii*, *L. peruvianum*, *L. hirsutum*) y cultivado (*L. esculentum* y *L. pimpinellifolium*), las diferencias en la actividad de la invertasa de pared corresponde con el tipo de azúcar presente en los frutos, dominantes en sacarosa en los silvestres y dominantes en hexosas en los cultivados (Manning y Maw, 1975; Yelle *et al.*, 1988; Miron y Schaffer, 1991; Stommel, 1992; Klann *et al.*, 1993, Ohyama *et al.*, 1995).

La actividad diferencial de las distintas invertasas en los tejidos demanda sugieren que el metabolismo de los carbohidratos puede variar. Por ejemplo, cuando hay mayor actividad de invertasas de pared se propone que la sacarosa es descargada del floema vía apoplasto y se hidroliza para entrar a la célula en forma de hexosas (Manning y Maw, 1975; Yelle *et al.*, 1988; Miron y Schaffer, 1991; Stommel, 1992; Klann *et al.*, 1993, Ohyama *et al.*, 1995). No obstante, cuando esta enzima se ha suprimido genéticamente, también se encuentran niveles altos de glucosa y fructosa en los frutos, lo que indica que la descarga de la sacarosa podría ocurrir también a través de plasmodesmos y la presencia de hexosas se debe a la acción de la invertasa de la vacuola (Ohyama *et al.*, 1995), aunque hay que recordar que hay otras enzimas del metabolismo que podrían funcionar incrementando el contenido de hexosas (sacarosa fosfato sintetasa) (Buchanan *et al.*, 2000). En las especies que acumulan sacarosa, por ejemplo en *L. chmielewskii*, el transporte por plasmodesmata también se ha encontrado, pero el hecho de que en sus frutos el principal azúcar sea la sacarosa y no las hexosas, se debe a una resíntesis de la sacarosa llevada a cabo por la sacarosa fosfato sintetasa (Dali *et al.*, 1992).

En las cactáceas columnares estudiadas la actividad de la sacarosa fosfato sintetasa no ha sido determinada; sin embargo, haber encontrado actividad de la invertasa de vacuola podría sugerir por un lado, que el mecanismo de entrada de la sacarosa pueda ser vía plasmodesmos y que la presencia de néctares con sacarosa se lograría a través de la actividad de la sacarosa fosfato sintetasa ó a la presencia de transportadores de sacarosa en las células. La correlación entre la acumulación de sacarosa y la actividad de la sacarosa fosfato sintetasa ha sido observada también en especies como el betabel (*Beta vulgaris*), el melón (*Cucumis melo*) y el jitomate (*L. hirsutum*) (Fieuw y Willenbrick, 1987; Hubbard *et al.*, 1989; Miron & Schaffer, 1991), por lo que se sugiere hacerlo en cactáceas columnares para verificar esta vía de transporte de la sacarosa.

Los factores abióticos como la temperatura pueden afectar la estructura tridimensional de las proteínas, llevando en muchos casos, a modificar el sitio activo de las enzimas y reducir la eficacia de su actividad (Hames *et al.*, 1997). Las cactáceas columnares son más eficientes a resistir temperaturas altas (Nobel, 2002); sin embargo especies como *C. gigantea*, *S. thurberi*, *S. alamosensis*, *S. gummosus* y *L. schottii* distribuidas en latitudes por arriba de los 29° N, están expuestas durante el día a temperaturas por arriba de la cual la mayoría de las enzimas se desnaturalizan (55°C) (Nobel, 2002). *S. slamosensis*, *L. schottii* y *S. gummosus* tienen néctares con sacarosa y la actividad de la invertasa fueron de las más bajas dentro de las especies analizadas. En general, la relación entre la temperatura a la cual se colectó el tejido nectarial y la actividad de la invertasa fue inversamente proporcional, sugiriendo que la actividad de la invertasa podría estar alterada en sitios en los cuales las especies se enfrentan a temperaturas donde la mayoría de las enzimas disminuyen o pierden su actividad.

Este es el primer estudio en donde se mide la actividad de la invertasa a nivel de tejido nectarial en flores y resulta interesante la posible relación con la composición de azúcares en el néctar. Los resultados también muestran que esta enzima podría estar influyendo en las diferencias de la concentración y volumen de néctar entre las especies que producen hexosas y las de sacarosa. Así, se observó que las especies con hexosas son significativamente menos concentradas que las de sacarosa y producen un volumen mayor de néctar.

En muchas plantas el néctar producido es proporcional al volumen de la cámara nectarial (Pacini *et al.*, 2003 y citas ahí). En nuestros resultados existe una relación positiva entre ambos factores ( $r^2=0.76$ ); sin embargo, *S. gummosus*, la especie con la flor más voluminosa (104.4 cm<sup>3</sup>), y la cual presenta una cámara nectarial similar al tamaño de las especies que producen volúmenes altos de néctar, no produce la mayor cantidad de néctar.

Desde el punto de vista de las interacciones planta-polinizador, el néctar juega un papel importante para la atracción de los polinizadores, y sus azúcares son la principal recompensa energética para ellos. Se ha sugerido que los cambios en los azúcares del néctar pueden estar influenciados por una selección mediada por el grupo polinizador (Dupont *et al.*, 2004). Algunos autores han propuesto que la composición de azúcares para las especies de un mismo clado podría ser el resultado de las restricciones filogenéticas en lugar de la interacción con su polinizador (Armbruster, 1996; Perret *et al.*, 2001); no obstante, en especies cercanamente relacionadas se ha visto que existe un cambio en la composición del néctar, pasando de sacarosa a hexosas y que esto se relaciona a cambios en el gremio de polinizadores (Dupont *et al.*, 2004).

En la filogenia de la tribu Pachycerinae basada en caracteres morfológicos (Cornejo y Simpson, 1997), se puede observar que en la subtribu Stenocereinae dos especies, *S. gummosus* y *S. stellatus*, están cercanamente relacionadas, la primera con un néctar de

sacarosa y polinizada por esfíngidos pudo haber derivado de la segunda, con un néctar de hexosas y polinizada por murciélagos. Esto podría sugerir que la interacción con un gremio de polinizadores diferentes al ancestral, pudiera tener un efecto sobre la composición de azúcares en el néctar.

Dentro de la subtribu Pachycereinae, *Lophocereus schottii* (= *Pachycereus*) y *P. marginatus* son las únicas cactáceas columnares que no presentan un síndrome de polinización por quirópteros, la primera es polinizada principalmente por palomillas nocturnas y presenta un néctar de sacarosa, mientras que la segunda, es polinizada tanto de día como de noche por colibríes y murciélagos respectivamente (Dar *et al.*, 2006) y presenta un néctar de sacarosa con un alto componente de glucosa y fructosa (33 y 30 % respectivamente). La reconstrucción filogenética de la subtribu con la combinación de los genes de la región interna transcrita del espaciador *ITS* y de tres espaciadores del cloroplasto *trnL-F* (intrón y exón) y *rp/16* (Arias *et al.*, 2003) (Hartmann *et al.*, 2002) muestra que ambas especies están cercanamente relacionadas, por lo que podría sugerirse que la evolución hacia los sistemas de polinización por colibrí y palomilla pudo derivarse de un ancestro común polinizado por murciélagos con flores nocturnas y que los insectos pudieron haber sido una presión de selección importante en los néctares de sacarosa. Una explicación fisiológica podría proporcionar claridad a lo anterior. Por más diluido que pueda estar el néctar, éste tiene muchos más osmolitos que la hemolinfa, por lo que una de las razones por las cuales un insecto estaría seleccionando un néctar de sacarosa es debido a que ésta contiene mucho más energía por unidad de concentración osmótica que un néctar de hexosas con una cantidad de energía equivalente. Además, como resultado de esta selección, el polinizador se beneficia teniendo a través de la porción anterior de su tubo digestivo un gradiente osmótico menor (Nicolson, 1998). Los datos en la concentración del néctar podrían estar apoyando esta hipótesis puesto que las

especies de sacarosa tuvieron una concentración significativamente mayor que las que presentaron hexosas y son éstas las que están siendo polinizadas por insectos y colibríes.

Los efectos de la concentración del néctar también se han evidenciado en los estudios sobre preferencias de alimentación en el picaflor *D. baritula* y el colibrí *E. fulgens* los cuales prefieren soluciones de hexosas cuando la concentración es baja y de sacarosa cuando son altas. La fisiología de estas aves podría explicar estas preferencias ya que mientras *E. fulgens* presenta la enzima para asimilar la sacarosa, el picaflor tiene *tres veces* menos enzima (sacarasa = invertasa en plantas) para hidrolizar a la sacarosa. Esta restricción enzimática ocasiona que cuando los individuos de esta especie se alimentan de sacarosa entran en un estado de inactividad y de reducción a estímulos externos, una especie de sopor, al día siguiente de haber comido sacarosa, escenario que no ocurre con los colibríes (Schondube & Martínez el Río, 2003).

El conjunto de datos presentados en la literatura sobre la composición del néctar en especies con síndrome quiropterófilo (Scogin, 1985; Petit & Freeman, 1997; Santos, 2002) dan pie a plantear un escenario natural en donde los murciélagos podrían estar seleccionando predominantemente plantas que producen néctares con hexosas; no obstante experimentos con murciélagos nectarívoros en cautiverio muestran que existe preferencia hacia los néctares con sacarosa (Herrera, 1999). Así, el hecho de que las plantas estén produciendo hexosas podría ser un mecanismo para que el néctar permanezca más tiempo en la flor, ya que a cierta humedad relativa, los néctares con sacarosa tienen concentraciones más elevadas que los néctares con hexosas. Las soluciones de hexosas se evaporan menos rápido que las soluciones de sacarosa (Nicolson, 1998), haciendo disponible el néctar para un mayor número de visitantes florales con altos requerimientos energéticos. Las especies estudiadas con sistemas de polinización por murciélagos resultaron ser las que produjeron un mayor



volumen de néctar con alta concentración de sacarosa en la medianoche y antes del amanecer, lo que se traduce en un alto contenido energético (Santos, 2002). En el Valle de Tehuacán las especies de cactáceas quiropterófilas presentan altos contenidos energéticos durante la noche (Santos, 2002) y los valores máximos de energía por flor coinciden con los máximos de actividad de los murciélagos, uno entre las 1900 y 2300 horas y el otro entre las 0100 y 0500 horas (Valiente-Banuet *et al.*, 1996)

En Sudamérica *Eccremocarphus scaber* polinizada por colibríes presenta una composición del néctar rica en glucosa, maltosa y fructosa, contrario a la composición de sacarosa que comúnmente encontramos en especies polinizadas por colibríes; sin embargo, su polinizador (*Patagonia gigas gigas*) resulta ser el colibrí más grande del mundo, el cual tiene aproximadamente el doble de requerimientos energéticos de los colibríes de tamaño promedio (Belmonte *et al.*, 1994).

De este modo, los estudios ecológicos sobre biología reproductiva han arrojado evidencias de cómo ciertas características de las plantas podrían ser resultado de las presiones de selección ejercidas por los polinizadores especialista.

La división de las características que componen los síndromes de polinización podría dar la posibilidad de estudiar los *polimorfismos genéticos* y cómo estos afectan el comportamiento de los polinizadores. El néctar es la principal recompensa ofrecida a los polinizadores y el examen de sus características particulares como son el volumen, la concentración y el tipo de azúcares en conjunto con la fisiología de los polinizadores, abrirán nuevos horizontes para entender el comportamiento de los animales y cómo estos se relacionan con los sistemas de polinización en las plantas.

## CONCLUSIONES

◆ La composición de azúcares en el néctar de las especies estudiadas se relaciona con los síndromes de polinización. Los néctares con hexosas aparecen en especies polinizadas por murciélagos, mientras que los néctares con sacarosa en especies con síndrome de polinización por colibríes, esfíngidos, abejas y palomillas nocturnas.

◆ El volumen y la concentración del néctar se relacionan con el tipo de azúcares del néctar. Los néctares abundantes y con concentraciones por debajo de los 25 ° Brix se encuentran en especies que producen néctares de hexosas. Las especies con volúmenes de néctar bajos y concentraciones mayores a los 25° Brix se encuentran en las que producen néctar con sacarosa.

◆ La actividad de las invertasas de vacuola resultó ser mayor en las especies con néctar de hexosas; sin embargo, debido a que dos especies que producen néctar de hexosas tuvieron una actividad similar a las especies que producen sacarosa, se recomienda analizar la actividad de las invertasas de pared para conocer su aporte al metabolismo de los carbohidratos, así como ampliar el tamaño de muestra de estas especies para verificar su tendencia.

◆ Existe una relación fuerte entre el tamaño de la cámara nectarial y la producción de néctar; no obstante, *S. gummosus* con la flor más grande (en volumen) no fue la especie que produjo más néctar.

## LITERATURA

- Arias, S., T. Terrazas y K. Cameron.** 2003. Phylogenetic analysis of *Pachycereus* (Cactaceae, Pachycereeae) based on chloroplast and nuclear DNA sequence. *Systematic Botany* 28(3): 547-557.
- Armbruster, W. S.** 1993. Evolution of plant pollination systems: hypotheses and test with the neotropical vine *Dalechampia*. *Evolution* 47(4): 1480-1505.
- Baker, H. G., e I. Baker.** 1982. Chemical constituents of nectar in relation to pollination mechanisms and phylogeny. Pp. 131-171, en *Biochemical aspects of evolutionary biology* (M. H. NITECKI, ed.). University of Chicago Press, Chicago, IX + 259 pp.
- Baker, H. G., e I. Baker.** 1983. Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type. Pp. 117-141, en *Handbook of experimental pollination biology* (C. E. Jones y R. J. Little, eds.). Scientific and Academic Editions, New York, 558 pp.
- Baker, H. G., e I. Baker.** 1990. The predictive value of nectar chemistry to the recognition of pollinators type. *Israel Journal of Botany* 39: 157-166.
- Baker, H. G., I. Baker, y S. A. Hodges.** 1998. Sugar composition of nectar and fruit consumed by birds and bats in the tropics and subtropics. *Biotropica* 30: 559-586.
- Barnes, K., Nicolson, S.W., Van Wyk, B-E.** 1995. Nectar sugar composition in *Erica*. *Biochemical Systematic Ecology* 23, 419-423.
- Belmonte, E., L. Cardemil, y M. T. Kalin Arroyo.** 1994. Floral nectary structure and nectar composition in *Eccelemocarpus scaber* (Bignoniaceae), a hummingbird-pollinated plant of central Chile. *American Journal of Botany* 81: 493-503.

- Bradford** M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemical* 72: 248-254.
- Buchanan** B. B., W. Gruissem, R. L. Jones, eds. 2000. *Biochemistry and Molecular biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, Maryland. US. 1367 pp.
- Casas**, A., A. Valiente-Banuet, A. Rojas-Martínez y P. Davila. 1999. Reproductive biology and the process of domestication of the columnar cactus *Stenocereus stellatus* in Central Mexico. *American Journal of Botany*, 86(4): 534-542.
- Clark-Tapia**, R y F. Molina-Freaner. 2003. The genetic structure of a columnar cactus with a disjunct distribution: *Stenocereus gummosus* in the Sonoran Desert. *Heredity* 90: 443-450.
- Cornejo**, D. y B. Simpson. 1997. Analysis of form and function in north american columnar cacti (Tribe Pachycereeae) *American Journal of Botany* 84:1482-1501.
- Cruden**, R.W. 1997. Implication of evolutionary theory to applied pollination ecology. *Acta Horticulturae* 437: 27-51.
- Cruz** M. y Casas A. 2002. Morphological variation and reproductive biology of *P. chende* (Cactaceae) under domestication in central Mexico. *Journal of Arid Environments* 51: 561-576.
- Dar**, S., Arizmendi, Ma. Del C., Valiente-Banuet, A. 2006. Diurnal and Nocturnal Pollination of *Marginatocereus marginatus* (Pachycereeae: Cactaceae) in Central Mexico. *Annals of Botany* 97: 243-247.
- Darwin**, C. 1862. *On the various contrivances by which British and foreign orchids are fertilized*. London: Murray.

- Dali**, N., Michaud, D. y S. Yelle. 1992. Evidence for the involvement of Sucrose Phosphate Synthase in the path way of sugar accumulation in sucrose accumulating tomato fruits. *Plant Physiology* 99:434-438.
- Dupont**, Y., Hansen M., Rasmussen J., y J. Olesen. 2004. Evolutionary changes in nectar sugar composition associated with switches between bird and insect pollination: the Canarian bird-flower element revisited. *Functional Ecology* 18: 670-676.
- Faegri**, K. y van der Pijl. V. L., 1971. *The Principles of Pollination Ecology*. Pergamon Press. New York. 291p.
- Fahn**, A. 1979. Ultrastructure of nectaries in relation to nectar secretion. *American Journal of Botany* 66: 977-985.
- Fieuw**, S. y J. Willenbrink. 1987. Sucrose synthase and sucrose phosphate synthase in sugar beet plants (*Beta vulgaris* L. spp *altissima*). *Journal of Plant Physiology* 131:153-162.
- Fleming**, T.H., Tuttle, D.M. y Horner, M.A. 1996. Pollination Biology and the relative importance of nocturnal and diurnal pollinators in three species of sonoran desert Columnar cacti. *The Southwestern Naturalist* 4(3):257-269
- Fleming**, T.H., C. T. Shaley., J. N. Holland., J. D. Nason y J.L. Hamrick. 2001. Sonoran Desert columnar cacti and the evolution of generalized systems. *Ecological Monographs* 71:511-530.
- Flores**, O., Peñalosa C., Hernández B., Dávila A., y M. del Coro Arizmendi. 2003. Carbohydrate analysis of floral nectar using medium infrared. *Phytochemical Analysis* 14:319-324.
- Fotopoulos** V., Gilbert, J., Pittman, K., Marvier, C., Buchanan, J., Sauer, N., Hall, J.L., y L. Williams. 2003. The monosaccharide transporter gene, *AtSTP4*, and the cell-wall invertase,

*Atβfruct1*, are induced in Arabidopsis during infection with the fungal biotroph *Erysiphe cichoraceraum*. *Plant Physiology* 132:821-829.

**Freeman**, W. H., Reid, J. Becvar, E., y R. Scogin. 1984. Similarity and apparent convergence in the nectar-sugar composition of some hummingbird-pollinated flowers. *Botanical Gazette* 145: 132-135.

**Freeman**, W. H., Worthington D., y Rafael D. Corral. 1985. Some floral nectar-sugar compositions from Durango and Sinaloa, Mexico. *Biotropica* 17(4): 309-313.

**Galen**, C., y RC Plowright. 1984. The effects of nectar level and flower development of pollen carry-over in inflorescences of fireweed (*Epilobium angustifolium*) (Onagraceae). *Canadian Journal of Botany* 63: 488-49

**Galetto**, L y G. Bernardello 2003. Nectar sugar composition in angiosperms from Chaco and Patagonia (Argentina): an animal visitor's matter? *Plant Systematic and Evolution* 238: 69-86.

**García**, E. 1973. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

**Gibson**, A. C., y P. S. Nobel. 1984. *The Cactus Primer*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, USA.

**González** A, Rowe C.L, Weeks P.J., Whittle D, Gilberts F.S. y Barnard C.J. 1995. Flower choice by honeybees (*Apis mellifera* L.): sex phase of flowers and preferences among nectar and pollen foragers. *Oecologia* 101: 258-264

**Gómez** J.M. 1996. Predispersal reproductive ecology of an arid land crucifer, *Moricandia moricandioides*: effect of mammal herbivore on seed production. *Journal of Arid Environments* 33: 425-437.

**Gottsberger**, G., J. Schrauwen y H.L. Linskens. 1984. Amino acids and sugars in nectar, and their putative evolutionary significance. *Plant Systematically Evolution* 145: 55-77.

- Grant**, V. y K. A. Grant. 1979. The pollination spectrum in the southwestern american cactus flora. *Plant Systematics and Evolution*, 133: 29-37.
- Hames**, B. D., Hooper, N.M. y J.D. Houghton. 1997. *Instant Notes in Biochemistry*. Springer-Verlag. New York.
- Hartmann**, S., J. D. Nason y D. Bhattacharya. 2002. Phylogenetic origins of *Lophocereus* (Cactaceae) and the senita cactus-senita moth pollination mutualist. *American Journal of Botany*, 89(7): 1085-1092.
- Herrera**, C.M. 1988. Variation in mutualism: the spatiotemporal mosaic of a polinator assemblage. *Biological Journal of the Linnean Society* 35: 95-125.
- Herrera**, C.M. 1996. Floral traits and adaptation to insect pollinators: a devil's advocate approach. En: Lloyd D.D., Barret S.C.H. eds. *Floral biology: studies on floral evolution in animal-pollinated plants*. New York: Chapman and Hall, 65-87.
- Herrera**, M.L.G., 1999. Sugar composition of fruit and nectar and preferences of bats: causes and consequences. *Acta Quiropterologica* 1: 201-208.
- Holland**, J. N., y T.H. Fleming. 1999. Mutualistic interactions between *Upiga virescens* (Pyralidae), a pollinating seed-consumer, and *Lophocereus schotii* (Cactaceae). *Ecology* 80: 2074-2084.
- Horvitz**, C.C. y D. W. Schemske. 1990. Spatiotemporal variation in insect mutualists of a neotropical herb. *Ecology* 71: 1085-1097.
- Howell**, D. J. 1974. Bats and pollen: physiological aspects of the syndrome of quiropterophily. *Compositio Biochemical Physiologist* 48a: 263-276.
- Hubbard**, N. L., Huber, S. C. y D. M. Pharr. 1989. Sucrose phosphate synthase and acid invertase as determinants of sugar concentrations in developing muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruits. *Plant Physiology* 1527-1534.

- Jackson, S.**, y S. Nicolson. 2002. Xylose as a néctar sugar: From biochemistry to ecology. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 131:613-620.
- Klann, E. M.**, Chetelate, R. T. y A. B. Bennett. 1993. Expression of acid invertase gene control sugar composition in tomato (*Lycopersicon*) fruit. *Plant Physiology* 103: 863-870.
- Kunz, T. H.** 1982. *Ecology of Bats*. Editorial Plenum. New York. 425 p.
- Leiss K.**, Vrieling K. y P. Klinkhamer. 2004. Heritability of nectar production in *Echium vulgare*. *Heredity* 92: 446–451.
- Manning, K.** y G. A. Maw. 1975. Distribution of acid invertase in the tomato plant. *Phytochemistry* 14: 1965-1969.
- Mant, C.T.** and Hodges R.S. eds. 1991. *High-Performance Liquid Chromatography of Peptides and Proteins: Separations, Analysis, and Conformation*, CRC Press: Boston.
- Martínez-Ávalos, J.**, Azpiri, H., G. Malda. 2004. El desierto Tamaulipeco: Árida riqueza. Pp. 105-121 en *La gran provincia natural tamaulipeca* (Robles G., Ecurra E., Petres E., Pallares, E.A. Ecurra comp.). Gobierno del Estado de Tamaulipas-Agrupación Sierra Madre, México.
- Martínez del Rio, C.**, 1990. Dietary, phylogenetic, and ecological correlates of intestinal sucrase and maltase activity in birds, *Physiological Zoology* 63:987-1011.
- Martínez del Rio, C.** y B. Stevens.1989. Physiological constraint on feeding behavior: intestinal membrane disaccharidases of the starling. *Science* 24:794-796.
- Martínez del Rio, C.**, Stevens, B.R., Daneke, D.E. 6 Adreadis, P.T. 1988. Physiological correlates of preferences and aversion for sugar in three species of birds. *Physiological Zoology* 61: 222-229.
- Miron, D** y A.A. Shaffer. 1991. Sucrose Phosphate Synthase, Sucrose Synthase, and invertase activities in the developing fruit of *Lycopersicon esculentum* Mill. and the sucrose accumulating *Lycopersicon hirsutum* Humb. and Bonpl. *Plant Physiology* 95:623-627.



- Molina-Freaner, F.,** Rojas-Martínez A., Fleming, T., A. Valiente-Banuet. 2004. Pollination biology of the columnar cactus *Pachycereus pecten-aboriginum* in north-western México *Journal of Arid Environments*, 56:117-127 .
- Nassar, J. M.,** Ramírez, N. y O. Linares. 1997. Comparative pollination biology of venezuelan columnar cacti and the role of nectar-feeding bats in their sexual reproduction. *American Journal of Botany* 84: 918-927.
- Nebiolo, C. y E. White.** 1985. Corn mitochondrial protein synthesis in response to heat shock. *Plant Physiology*: 79: 1129-1132.
- Nicolson, S.W.** 1998. The importance of osmosis in nectar secretion and its consumption by insects. *American Zoologist* 38: 418-425.
- Nicolson, S.W.** 2002. Pollination by passerine birds: why are the nectars so dilute? *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 131: 645-652.
- Nobel, P.** 2002. Physiological Ecology of columnar Cacti. Pp. 189-204 en *Columnar Cacti and their Mutualist* (Fleming, T y Valiente-Banuet, A. Ed.). University of Arizona Press. USA 371 p.
- Ohyama, A.,** Ito, H., Sato, T., Nishimura, S., Imai, T y M. Girai. 1995. Suppression of acid invertase activity by antisense RNA modify the sugar composition of tomato fruit. *Plant Cell Physiology* 36: 369-376.
- Ollerton, J.** 1996. Reconciling ecological processes with phylogeneic patterns: the apparent paradox of plant-pollinator systems. *Journal of Ecology* 84:767-769.
- Otero-Arnaiz, A.,** Casas A., Bartolo C., Pérez-Negrón, E., A. Valiente-Banuet. 2003. Evolution of *P. chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacán Valley, Central Mexico: reproductive biology. *American Journal of Botany* 90:593-602

- Pacini, E., Nepi, M. y J. L. Vesprini.** 2003. Nectar biodiversity: a short review. *Plant Systematics and Evolution* 238: 7-21.
- Percival, M. S.** 1961. Types of nectar in angiosperms. *New Phytologist* 60: 235-281.
- Perret, M., Chautems, A., Spichieger, R., Peixoto, M., Savolainen. V.** 2001. Nectar sugar composition in relation to pollination syndromes in Sinningieae. *Annals of Botany* 87: 267-273.
- Petanidou, T., Goethals, V., E. Smets.** 2000. Nectary structure of Labiatae in relation to their nectar secretion and characteristics in Mediterranean shrub community – Does flowering time nectar? *Plant Systematic and Evolution* 225: 103-118.
- Petit, S y E. Freeman.** 1997. Nectar production of two Sympatric Species of Columnar Cacti. *Biotropica* 29(2): 175-183.
- Pleasants, J.M.** 1981. Bumblebee response to variation in nectar availability. *Ecology* 62: 1648-1661.
- Proctor, M. y P. Yeo.** 1979. *The pollination of flowers.* William Collins Sons & Co. Ltd. Glasgow. London
- Pyke, G.H., Waser, N.M.** 1981. The production of dilute nectars by hummingbird and honeyeater flowers. *Biotropica* 13:260-270
- Rathcke, B.J.** 1992. *Nectar distributions, pollinator behavior and plant reproductive success.* En: Hunter M.D., Ogushi T, Price P.W., (eds) *Effect of Resource Distribution on animal Plant Interactions.* Academic Press: New York, pp 113-138.
- Santos, R.** 2002. Composición de azúcares y contenido energético del néctar de nueve especies quiropterófilas del Valle de Tehuacan-Cuicatlán. P. 31. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM, México.

- Scogin**, R. 1985. Nectar constituents of the Cactaceae. *The Southwestern Naturalist* 30(1): 77-82.
- Schondube**, E. J. y C. Martinez-del-Rio. 2003 Concentration-dependent sugar preferences in nectar-feeding birds: mechanisms and consequences. *Functional Ecology* 17: 445-453.
- Stebbins**, G. L. 1970. Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms, I: pollination mechanisms. *Annual Review of Ecology and Systematics* 1:307-326.
- Stewart**, C., Barry, M., Reding L., y S. Cerwick. 1990. Respiration and alternative oxidase in corn seedling tissues during germination at different temperatures. *Plant Physiology* 92: 755-760.
- Stiles** F.G. y C.E. Freeman . 1993. Patterns in flora nectar characteristics of some bird-visited plant species from Costa Rica. *Biotropica*. 25: 191-205.
- Stommel**, J.R. 1992. Enzymic components of sucrose accumulation in the wild tomato species *Lycopersicon peruvianum*. *Plant Physiology* 99:324-328.
- Sturm** A. y Tang G. 1999. The sucrose-cleaving enzymes of plants are crucial for development, growth and carbon partitioning. *Trends in Plant Science* 4: 401-407.
- Tang, X.**, Ruffner, H-P., Scholes, JD y Rolfe SA. 1996. Purification and characterisation of soluble invertases from leaves of *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 198: 17-23
- Torres**, Ruiz, A. 2003. Biología de la polinización de *Stenocereus dumortieri* (Cactaceae: Pachycereeae) en el Valle de Tehuacán y el límite sur del desierto Chihuahuense. Tesis de Maestría. UNAM. México, D. F. 96 pp.
- Trouverie**, J., Thévenot, C., Rocher, J., Sotta, B., y J.L. Prioul. 2003. The role of abscisic acid in the response of a specific vacuolar invertase to water stress in the adult maize leaf. *Journal of Experimental Botany* 54:2177-2186.

- Valiente-Banuet, A.,** Arizmendi, M.C., Rojas-Martínez y L. Domínguez-Canseco. 1996. Ecological relationships between columnar cacti and nectar feeding bats in Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 12:103-119.
- Valiente-Banuet, A.,** Arizmendi, M.C., Rojas-Martínez, A. y P. Dávila. 1997a. Pollination Biology of two columnar cacti (*Neobuxbaumia mezcalensis* and *Neobuxbaumia macrocephala*) in the Tehuacan Valley, Central Mexico. *American Journal of Botany* 84: 452-455.
- Valiente-Banuet, A.,** Rojas-Martínez, A., Casas, A., Arizmendi, Ma del C. y P. Dávila. 1997b. Floral biology and pollination ecology of two winter-blooming giant columnar cacti in Tehuacan Valley, México. *Journal Arid Environment* 37: 331-341.
- Valiente-Banuet, A.,** Casas, A., Alcántara A., Dávila, P., Flores-Hernández, N., Arizmendi, Ma. del C., Villaseñor, J y J. Ortega. 2000. La Vegetación del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 67: 24-27.
- Valiente-Banuet, A.,** Molina-Freaner, F., Torres, A., Arizmendi, M. del C., y A. Casas. 2005. Geographic differentiation in the pollination system of the columnar cactus *Pachycereus pectin-aboriginum*. *American Journal of Botany* 91: 850-855.
- Vogel, S.** 1996. Christian Konrad Sprengel's Theory of the Flower: The Cradle of Floral Ecology. Pp. 44-62 en *Floral biology* (Lloyd D. y Barrett S. Ed.). Chapman & Hall, USA 410 p.
- Waser, N.M.,** Chittka, L., Price M.V., Williams, N.M. y Ollerton, J. 1996. Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology* 77: 1043-1060.
- Williams L.E.,** Lemoine R. y N. Sauer. 2000. Sugar transporters in higher plants – a diversity of roles and complex regulation. *Trends in plant science* 5:283-290.

**Wilson, P.**, Castellanos, M.C., Hogue, J.N., Thomson, JD y Armbruster W.S. 2004. A multivariate search for pollination syndromes among penstemons. *Oikos* 104: 345-361.

**Yelle, S.**, Hewitt J., Robinson, N., Damon, S y A. Bennett. 1988. Sink metabolism in tomato fruit. III. Analysis of carbohydrate assimilation in a wild species. *Plant Physiology* 87: 737-740.

**Zar, J.** 1984. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall. USA.