



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
FACULTAD DE CIENCIAS  
SISTEMÁTICA

**Recompensas y atributos florales en especies de Piperaceae**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**NADIA CASTRO CÁRDENAS**

**TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. Sonia Vázquez Santana**

Facultad de Ciencias, UNAM

**COMITÉ TUTOR: Dra. Martha Juana Martínez Gordillo**

Facultad de Ciencias, UNAM

**Dr. Ángel Salvador Arias Montes**

Facultad de Ciencias, UNAM

**CDMX.**

**SEPTIEMBRE 2017**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.





**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
FACULTAD DE CIENCIAS  
SISTEMÁTICA

**Recompensas y atributos florales en especies de Piperaceae**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**NADIA CASTRO CÁRDENAS**

**TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. Sonia Vázquez Santana**

Facultad de Ciencias, UNAM

**COMITÉ TUTOR:**

**Dra. Martha Juana Martínez Gordillo**

Facultad de Ciencias, UNAM

**Dr. Ángel Salvador Arias Montes**

Facultad de Ciencias, UNAM

**MÉXICO, CDMX. SEPTIEMBRE 2017**

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO FCIE/DEP/479/2017

ASUNTO: Oficio de Jurado

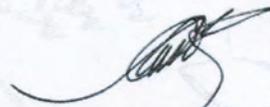
Lic. Ivonne Ramírez Wence  
Directora General de Administración Escolar, UNAM  
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 5 de junio de 2017 se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Sistemática** de la alumna **CASTRO CÁRDENAS NADIA** con número de cuenta **306004469** con la tesis titulada "**Recompensas y atributos florales en especies de Piperaceae**", realizada bajo la dirección de la **DRA. SONIA VÁZQUEZ SANTANA**:

Presidente: DRA. SILVANA MARTÉN RODRÍGUEZ  
Vocal: DRA. MARÍA DEL CARMEN MANDUJANO SÁNCHEZ  
Secretario: DRA. MARTHA JUANA MARTÍNEZ GORDILLO  
Suplente: M. EN C. BALDOMERO ESQUIVEL RODRÍGUEZ  
Suplente: DRA. ESTELA SANDOVAL ZAPOTITLA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"  
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 11 de agosto de 2017



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA  
COORDINADOR DEL PROGRAMA



AGNS/MJFM/ASR/mnm

## **AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES**

Quiero expresar mi agradecimiento al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de México, por brindarme la oportunidad de emprender y culminar una etapa más de aprendizaje.

Agradezco al Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo financiero otorgado durante mis estudios de maestría.

Agradezco a los miembros de mi Comité Tutor: Dra. Sonia Vázquez Santana, Martha J. Martínez Godillo y Dr. A. Salvador Arias Montes, por sus valiosos comentarios durante el desarrollo de este proyecto.

A mi tutora, Dra. Sonia Vázquez Santana por todos sus sabios consejos y el apoyo brindado a lo largo del desarrollo trabajo.

A la Dra. Martha J. Martínez Godillo, del Herbario de la Facultad de Ciencias (UNAM), por sus grandes consejos y cuestionamientos durante la realización del trabajo.

Al Dr. Salvador Arias Montes por formar parte del Comité Tutor y por sus sabias aportaciones durante el desarrollo del proyecto.

## **AGRADECIMIENTO ACADÉMICOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México por todas las oportunidades brindadas, que me ha permitido crecer profesional y personalmente.

A la Dra. Sonia Vázquez Santana, por apoyarme en toda la realización de este trabajo y por motivarme a siempre preguntar más.

A los integrantes del jurado: Dra. Silvana Martén Rodríguez, Dra. María del Carmen Mandujano Sánchez, Dra. Martha J. Martínez Gordillo, M. en C. Baldomero Esquivel Rodríguez y Dra. Estela Sandoval Zapotitla por su tiempo y disponibilidad para realizar comentarios y sugerencias que me permitieron mejorar este trabajo.

A la Dra. Silvia Espinosa Matías por sus oportunos comentarios a lo largo de estos años y por el procesamiento y toma de fotografías en el Microscopio Electrónico de Barrido de la Facultad de Ciencias, UNAM.

A la M. en F.P. Ana Isabel Bieler Antolín por la ayuda y toma de fotomicrografías del Laboratorio de Microcne de la Facultad de Ciencias, UNAM.

A la Dra. Patricia Guevara Fefer, del Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias, por la asesoría brindada para el análisis de los compuestos volátiles florales.

Al M. en C. Roberto Enrique Llanos Romero, del Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias, UNAM, por el apoyo técnico brindado, por sus excelentes observaciones durante la realización del escrito del trabajo y la ayuda en el trabajo de campo.

A la M. en C. Mónica Karina Pérez Pacheco por sus sabios consejos durante el procesamiento de las muestras para los cortes histológicos y la aplicación de pruebas histoquímicas.

Al M. en C. José Gonzálo Ricardo Wong por su asesoría en el procesamiento del material de laboratorio.

Al Dr. Humberto Ramón Gómez Ruiz y M. en .C. Lucia Hernández Garciadiego, del Laboratorio de Espectrometría de Masas de la Facultad de Química, UNAM, por el desarrollo de la técnica de captura de aromas florales y análisis de datos de GC-MS.

Al Dr. Ismael A. Hinojosa Díaz del Laboratorio de Zoología, del Instituto de Biología, UNAM, por la identificación de las abejas.

Al M. en C. Ramiro Cruz Durán, del Herbario de la Facultad de Ciencias, UNAM, por la identificación de las plantas.

Al Biól. César A. González Martínez por la facilitación del sitio de estudio y la ayuda en el campo.

Al M. en C. Saddam Morales Saldaña por su asesoría en la realización del mapa de localidades.

A los M. en C. Aldebaran Camacho Velázquez, M. en C. Rocío Cruz Hernández, Biól. Óscar Ángel de Luna Bonilla, Sandra Ríos Carrasco, Pactli Fernando Ortega González, Fátima Barrón Pacheco, por su ayuda en el trabajo de campo.

A los pobladores de Acahuizotla, especialmente a la familia González Ramírez, por toda la atención que tuvieron en nuestra estancia en el poblado, especialmente al señor Beto y la señora Alma que siempre nos abrieron su casa y nos recibían con comida deliciosa.

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México.

## **AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL**

A mi madre Verónica Cárdenas, por alentarme siempre a mejorar y ser una mejor persona, por impulsarme, aconsejarme, y estar siempre a mi lado, si soy lo que soy es gracias a tí, en verdad este trabajo es tanto suyo como mío, muchísimas gracias.

A Silvia Mejía, por ser más que mi amiga mi hermana y siempre estar más allá de lo que la conciencia dicta, por no dejarme nunca y siempre procurarme. Te quiero mucho.

A la Dra. Sonia Vázquez Santana por apoyarme desde el primer día que llegue al laboratorio, a impulsarme siempre para ser mejor, por ser una gran amiga y ser mi madre académica. Por haberme formado y darme la confianza a realizar nuevos proyectos. Por siempre escucharme y dedicarme las palabras adecuadas a cada problema que se me presentaba. Por haber dejado que mis ideas se hicieran realidad con este trabajo, muchas gracias Sony, espero que todas esas horas de arduo trabajo tengan sus frutos pronto.

A mis profesores del Laboratorio de Desarrollo en Plantas, por la sana convivencia que fomentan dentro del laboratorio y por las largas discusiones durante la comida, muchísimas gracias. Especialmente a Mague por sus ocurrencias y su gran apoyo en el transcurso de mi estadia en el laboratorio.

Gracias a Enrique Llanos por todas pero todas las horas de trabajo en el laboratorio, ya que fuiste un pilar enorme en la elaboración de este trabajo, no tengo las palabras para agradecerte todos los conocimientos y sugerencias que me has aportado, muchísimas gracias, ya que fuiste más allá del deber al ayudarme y no se como pagarte todo ese apoyo, mil gracias.

A Mónica Karina por sus todos consejos, tips y discusiones de técnicas dentro y fuera del laboratorio. Por todas las compras que intentaba que no hicieras y que al final yo compraba más que tú, por todas esas comidas y risas que me sacaste, muchas gracias.

Gracias a mis grandes amigos y colegas de la carrera; Marcela Aragón, que a pesar de la lejanía siempre has estado ahí para alentarme y apoyarme, entre risas, llanto y gritos de vez en cuando, me has ayudado a ser una mejor persona, muchas gracias mi pequeña “Marsopia/Mochis/Marcelavita” y más que nada por siempre saber que a veces solo necesitaba desahogarme para darme cuenta de las cosas no eran tan graves como creía, te quiero millones. A Mauricio Velazquez, por compartir siempre una sonrisa y esa linda vibra que despides, por tus ocurrencias que siempre me alegran el día, creo que tienes un imán para las tragedias, pero siempre vez el lado positivo, gracias te quiero mucho, a David Torres, por ser tan realista y compartir esa visión conmigo, que ha hecho que crezca de una manera sorprenderte a lo largo de estos años. A Saddam Morales por ser tan frío cuando lo necesitaba, muchas gracias por todas las palmaditas que me diste alentandome a ser mejor y por ser un gran amigo. A Emmanuel Martínez por los chismes de pasillo que nos alegraban el día y por compartir conmigo parte de tu conocimiento, muchas gracias. A

Ulises Villanueva por ser franco en toda situación y por darme innumerables consejos, muchas gracias, contigo aprendí que no hay que juzgar a un libro por su portada, es mejor leerlo querido.

A los Soniboy's por sus comentarios durante la realización del trabajo y por su enorme ayuda en el trabajo de campo, muchísimas gracias. Especialmente a Pactli, por enseñarme a tener mucha paciencia y por haber sido un excelente discípulo, que superó al maestro, gracias en verdad.

A las "Abejas Reinas *Friesomelittas*" que sintieron la misma pasión por aquellos "bichos zumbadores". Especialmente a Esteban por toda esa buena vibra que despides y todas las risas compartidas y adoptarme en el congreso, muchísimas gracias.

A mis amigos del INECOL de Xalapa (Raúl Badillo "Pepis", Ernesto Huicochea y Tony), por todas sus ocurrencias y ñoñeses, gracias por alentarme y preguntarme para que los conocimientos siempre estén frescos jajaja, mil gracias. A mis amigos del IIES (Brenda, Enya, Ana, Tsiri, David, Sacbel, Netza) por su gran apoyo cuando andaba por las Morelias, por sus comentarios y buenas vibras, siempre me sacaban una buena sonrisa, muchas gracias, ya nos veremos pronto por allá.....

A Carlos por ser una gran amigo y apoyarme en los momentos más difíciles de mi vida, muchísimas gracias.

A Óscar por siempre alentarme a no darme por vencida, ciertamente por decirme que las flores de las Piperaceae no son flores, pero te demostré todo lo contrario, como siempre dijste "A DARLE DURO", muchas gracias...

Y a todos esos amigos que estuvieron conmigo en esta etapa y que a través de viajes o clases hicieron menos pesada la trayectoria final, muchas gracias por las risas, conocimiento y comentarios a lo largo de la realización de este trabajo.

*Se triunfa con todo lo que se aprende.....*

**By Coco Chanel**

## ÍNDICE

RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	2
INTRODUCCIÓN .....	3
ANTECEDENTES .....	4
Recompensas florales.....	4
Atrayentes primarios .....	4
1. Néctar.....	4
2. Polen .....	5
3. Aceites florales: elaióforos.....	5
Atrayentes secundarios.....	6
Aromas florales.....	6
1. Osmóforos.....	6
Recompensas florales en angiospermas basales.....	7
OBJETIVO GENERAL.....	9
Objetivos particulares .....	9
MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
Especies de estudio .....	10
Sitio de estudio.....	12
Colecta y fijación del material biológico .....	13
Visitantes florales .....	13
PROCESAMIENTO DEL MATERIAL PARA EL ANÁLISIS HISTOLÓGICO Y MICROMORFOLÓGICO .....	13
Deshidratación.....	13
Infiltración .....	14
Procesamiento del material para pruebas histoquímicas.....	14
Detección de lípidos.....	14
Detección de polisacáridos insolubles .....	14
Detección de almidón .....	14
PROCESAMIENTO DEL MATERIAL PARA EL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO .....	14
PROCESAMIENTO DEL MATERIAL PARA EL ANÁLISIS QUÍMICO .....	14
Captura de compuestos volátiles.....	14
Extracción de compuestos volátiles.....	15
Condiciones GC-MS .....	15
RESULTADOS.....	16
Morfología de las inflorescencias .....	16
Pruebas Histoquímicas para detección de polisacáridos insolubles y almidón .....	23
Visitantes florales .....	25
Aromas florales: compuestos volátiles .....	28
DISCUSIÓN.....	30
CONCLUSIONES.....	43
LITERATURA CITADA.....	44
ANEXO 1.....	51

# RECOMPENSAS Y ATRIBUTOS FLORALES EN ESPECIES DE PIPERACEAE

## RESUMEN

Las recompensas florales son los componentes que pueden considerarse como la principal motivación para los animales que visitan las flores e inflorescencias, mientras que las señales atraen la atención de los polinizadores y promueven el aprendizaje asociado. En este contexto, el estudio de las interacciones entre insectos e inflorescencias de Piperaceae ha recibido poca atención, posiblemente a causa del reducido tamaño de los órganos sexuales y la carencia de perianto. Debido a esto, por mucho tiempo se aceptó como un hecho, el transporte abiótico de los granos de polen y por consiguiente la ausencia, tanto de las recompensas como de los atributos florales que atrajeran a posibles polinizadores. La presente investigación se enfocó en el estudio de las recompensas y atributos florales involucrados en la polinización de cuatro especies de Piperaceae: *Piper amalago*, *P. scabrum*, *Peperomia questionis* y *Peperomia* sp. de la zona de Acahuizotla, Guerrero.

Por medio de técnicas histológicas y microscopía electrónica de barrido se analizó la anatomía y morfología de las flores. Simultáneamente se realizaron observaciones de campo donde se identificaron a los visitantes florales, considerando la frecuencia de las visitas y el comportamiento del forrajeo por parte de los insectos que llegaban a las inflorescencias. Finalmente se realizó la captura de volátiles florales utilizando discos para extracción en fase sólida (SPE) y se identificaron los principales compuestos por medio de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).

En las cuatro especies estudiadas se encontró una gran cantidad de granos de polen por flor, mismos que representan la oferta para los diferentes grupos de insectos visitantes. La presencia de polen sobre los cuerpos de los visitantes capturados constituye la prueba del transporte de polen por un vector biótico y de su papel como recompensa, estos hechos se contraponen a lo que había sido aceptado anteriormente. Por primera vez en la familia Piperaceae, se describe la presencia de elaióforos y además se identificaron los compuestos de los aromas florales (osmóforos), involucrados directamente con la atracción de polinizadores. Por otro lado, la información obtenida en este trabajo pone en evidencia que la mayoría de las estructuras y modificaciones que presentan las flores (elaióforos, grandes reservas de almidón y polisacáridos insolubles en los granos de polen y aromas florales) constituyen un sistema de recompensa y de atracción altamente especializados para los polinizadores. Se concluye que las inflorescencias de las especies estudiadas presentan sistemas de recompensas y de atracción involucrados en un modo de polinización biótico, posiblemente ocurriendo en la mayoría de las especies de Piperaceae.

# RECOMPENSAS Y ATRIBUTOS FLORALES EN ESPECIES DE PIPERACEAE

## ABSTRACT

The floral rewards are the components that can be considered as the main factors for the animals that visit flowers and inflorescences, while the signals attract the attention of pollinators and favor the associative learning process. Within this context, the study of the interactions between insects and inflorescences of Piperaceae has received scarce attention, possibly due the small size of sexual organs and the lack of perianth. Because of that, the abiotic transport of pollen grains was longtime accepted as fact, implying the absence of both rewards and floral attributes that could attract potential pollinators. This investigation focused in the study of the floral rewards and attributes involved in the pollination of four species from Piperaceae: *Piper amalago*, *P. scabrum*, *Peperomia questionis* and *Peperomia* sp. in the region of Acahuizotla, Guerrero.

The anatomy and morphology of flowers were analyzed by means of histological techniques and scanning electron microscopy. Simultaneously, field observations were performed and the floral visitors identified taking into account the frequency of its visits and foraging behavior in the inflorescences. Finally, the floral volatile emissions were captured utilizing solid phase extraction disks (SPE) and the main compounds identified by gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS).

A high amount of pollen grains per flower was found in all the species, which represents the plant offer to the diverse groups of visiting insects (bees and syphids). The presence of such pollen over the bodies of the captured visitors constitutes an evidence of the pollen grain transport by a biotic vector and its role as a reward; these observations are in opposition to the previously accepted ideas. Furthermore, for the first time in the family Piperaceae, the presence of oil secreting elaiophores was described and the compounds in the floral odors (osmophores) directly involved in the attraction of pollinators were identified. It is worth to note that the information obtained by this work makes evident that the majority of the structures and modifications (elaiophores, starch stocks and non-soluble polysaccharides in the pollen grains as well as floral odors) displayed by flowers are constituents of a reward and attraction system that is highly specialized towards pollinators. It is concluded that the inflorescences of the studied species possess reward and attraction systems involved in a biotic pollination mode, which is possibly occurring in most species of the Piperaceae.

# RECOMPENSAS Y ATRIBUTOS FLORALES EN ESPECIES DE PIPERACEAE

## INTRODUCCIÓN

La polinización es una de las interacciones entre las plantas y animales que ocurren en la naturaleza. Este proceso implica la transferencia de los granos de polen de las anteras al estigma (Proctor *et al.*, 1996; Pellmyr, 2002). Hay muchos tipos de polinización, incluyendo la intervención de insectos como vectores. La polinización por insectos o entomofilia es una relación generalmente mutualista que beneficia a ambas partes, las plantas pueden reproducirse sexualmente y los insectos reciben alimento como recompensa, generalmente en forma de polen o néctar, proporcionado por la planta (Faegri y van der Pijl, 1979, Proctor *et al.*, 1996; Pellmyr, 2002).

Los miembros de la familia Piperaceae se distinguen por presentar flores bisexuales o unisexuales, arregladas en espigas terminales, axilares o racimos densos, a menudo suculentas (Cronquist, 1981; Tebb, 1989; Judd, 1992; Nyffeler, 2004). Las flores no tienen perianto, lo cual facilita los estudios ontogenéticos que permiten proponer posibles modelos de evolución floral. La morfología floral es constante en las especies que han sido estudiadas, mostrando poca variación, al igual que la posición de la bráctea que cubre a los órganos florales y el desarrollo de sus hojas peltadas (Tucker *et al.*, 1993; Jaramillo *et al.*, 2004).

Previo a este estudio se había reportado que las flores de Piperaceae no presentaban nectarios, por consiguiente, no tienen néctar y por lo tanto la única recompensa potencial para los polinizadores sería el polen. Sin embargo, se mencionan otras estructuras secretoras que imitan la función nectarífera y que atraen a los polinizadores, como estructuras semejantes a los osmóforos (Vogel, 1998; Castro, 2014) o bien aromas florales (de Figueiredo y Sazima, 2007). Las especies incluidas dentro de los géneros *Peperomia* y *Piper* y en general de todas las Piperaceae, han sido poco estudiadas, pero se ha sugerido que algunos insectos, el viento y la autofecundación desempeñan un papel importante en la polinización. Por lo anterior el presente estudio se enfoca en explorar si existen estructuras florales secretoras como posibles recompensas o atrayentes para los polinizadores de cuatro especies de la familia Piperaceae, dos del género *Piper* (*P. amalago* L., y *P. scabrum* Lam.) y dos del género *Peperomia* (*P. questionis* G. Mathieu y *Peperomia* sp.), las cuales coexisten en una región de la selva mediana subcaducifolia cerca del ejido de Acahuizotla, Guerrero, México.

## ANTECEDENTES

### Recompensas florales

Existen dos sistemas básicos por los cuales las flores atraen a los polinizadores. El primero equivale a las recompensas (o atrayentes primarios) y el segundo a los atributos (o atrayentes secundarios). Las recompensas constituyen la principal motivación para los animales que visitan las flores. En contraste, las señales atraen la atención de los polinizadores y promueven un aprendizaje asociado (Pacini *et al.*, 2008; Golubov y Mandujano, 2009; Grajales-Conesa *et al.*, 2011; Armbruster, 2012). En este sentido, las recompensas florales pueden considerarse como componentes de las flores o inflorescencias, las cuales son usadas por algunos animales y al mismo tiempo las plantas aseguran visitas que darán lugar a la polinización. El polen y el néctar son la principal atracción de los polinizadores, lo cual ha sido observado desde muchos años atrás, pero recientemente se ha detectado y manifestado el proceso tan complejo de estas recompensas (Simpson y Neff, 1981; Baker y Baker, 1983; Zimmerman y Pyke, 1988; Pacini *et al.*, 2008). Debido a esto se ha propuesto que la cantidad y calidad de la recompensa, ofertada por la planta a los visitantes, puede influir de manera potencial para asegurar el éxito reproductivo o para la defensa contra herbívoros (Harder y Thomson, 1989; Navarro *et al.*, 2000; Pacini *et al.*, 2008; Grajales-Conesa *et al.*, 2011), ya que cada uno de estos componentes florales actúa sobre el número de visitas recibidas, la calidad y tiempo de la visita y el patrón de forrajeo, por lo cual las plantas deben de invertir los recursos necesarios para solventar el costo de los atributos florales, tanto para atraer como recompensar a los visitantes (Golubov y Mandujano, 2009; Grajales-Conesa *et al.*, 2011).

### Atrayentes primarios<sup>1</sup>

#### 1. Néctar

El néctar es la recompensa más común para la atracción de los polinizadores, es una solución que está compuesta principalmente por azúcares. Los azúcares más importantes, son la sacarosa, fructosa y glucosa (Armbruster, 2012). El néctar contiene además aminoácidos, proteínas, ácidos orgánicos, lípidos, iones inorgánicos, vitaminas, algunos compuestos volátiles y alcaloides, que han sido reportados como las características más importantes después de los carbohidratos. La

---

<sup>1</sup> Los atrayentes florales son considerados como las principales recompensas recibidas por los polinizadores

cantidad y composición de éstos depende del tipo de polinizador (Baker, 1977; Nicolson y Thornburg, 2007; Nepi *et al.*, 2012; Torres, 2013). Las flores con néctar son muy importantes para ciertos grupos de polinizadores, que son quienes lo consumen. Por consiguiente la morfología y diversidad de las flores con néctar se consideran muy especializadas (Torres, 2013).

## **2. Polen**

El polen es una de las recompensas comunes para la atracción de polinizadores y es considerado un recurso caro para las plantas, por la cantidad que se produce y por la pérdida de varios gametos (Armbruster, 2012), que serán consumidos en lugar de ser utilizados para fusionarse con los gametos femeninos y formar nuevos individuos en la población. El polen es más accesible que el néctar, por lo que es usado y recogido por muchos visitantes como escarabajos, moscas y abejas (Harborne, 1993). En ocasiones la mezcla del polen con el néctar puede causar beneficios nutricionales importantes, ya que los granos de polen son ricos en aminoácidos, polisacáridos y lípidos (Harborne, 1993; Endress, 1994). En algunas especies, el polen presenta un olor significativamente diferente de otras estructuras florales, ya que las plantas son capaces de anunciarlo como recompensa, proporcionando un nivel adicional a la diferenciación específica de otras plantas y aumentando las visitas florales (Harbone, 1993; Dobson y Bergström, 2000). En casos particulares, el polen es consumido por escarabajos (Coleoptera), que son el único orden capaz de romper con gran eficiencia, la pared del grano de polen, con menor frecuencia algunos himenópteros y dípteros también consumen este recurso (Harborne, 1993).

## **3. Aceites florales: elaióforos**

Vogel (1969) hizo un descubrimiento importante cuando reportó la existencia de flores que ofrecían aceites y no néctar a los polinizadores. Los aceites florales son secretados por glándulas especiales llamados elaióforos (Vogel, 1974), que son considerados como una recompensa alternativa con respecto al polen y néctar. Se conocen que están presentes en 70 géneros de ocho familias: Malpighiaceae, Krameriaceae, Cucurbitaceae, Primulaceae, Solanaceae, Scrophulariaceae, Iridiaceae y Orchidaceae (Simpsons y Neff, 1981; Armbruster, 2012). Tanto la disposición como la estructura de los elaióforos difieren de la de los nectarios (Endress, 1994). Este tipo de glándulas pueden ser de tipo tricomatoso o epitelial y usualmente se encuentran en la corola, en los estambres o en la base de los ovarios (Vogel, 1974). Los elaióforos epiteliales son áreas de tejidos glandulares con secreción de lípidos, las cuales son acumuladas en la cutícula de

las células epidérmicas (Simpson y Neff, 1981).

Los polinizadores que recolectan aceites como recompensa son un grupo especializado de abejas pertenecientes a la familia Anthophoridae (subfamilia Anthophorinae), quienes utilizan este recurso para alimentar a sus larvas (Faegri y der Pijil, 1979; Buchmann; 1987; Endress, 1994; Armbruster, 2012). Dentro de los compuestos que se han podido identificar están los de las flores del género *Krameria* (Krameriaceae), en las cuales se encontraron en el exudado bruto moléculas en forma de diglicérido de ácido acético y  $\beta$ -ácido acetyl palmítico (Simpson *et al.*, 1977).

## **ATRAYENTES SECUNDARIOS**

### **Aromas florales**

Los aromas florales constituyen una antigua e importante forma de comunicación entre las angiospermas con sus polinizadores, enemigos naturales y herbívoros (Dobson, 1994; Proctor *et al.*, 1996; Dobson y Bergtröm, 2000). Por lo general funcionan como atrayentes secundarios, que anuncian a los polinizadores la presencia y ubicación de las recompensas primarias (Faegri y der Pijil, 1979; Endress, 1994).

Cada especie de planta produce un aroma único que comprende una mezcla compleja de compuestos volátiles orgánicos, producto del metabolismo secundario; el reconocimiento de este aroma por los insectos polinizadores optimiza la interacción planta-animal (Grajales-Conesa, *et al.*, 2011). La mayoría de organismos que interactúan con las plantas son insectos que detectan en bajas cantidades los compuestos orgánicos volátiles por medio de sensores localizados en las antenas y ocasionalmente en las partes bucales (Dobson, 1994). En algunos casos el reconocimiento de los aromas es “aprendido”, lo que optimiza la eficiencia del forrajeo por parte de los insectos (Harborne, 1993; Cunningham *et al.*, 2006). Las zonas de las flores encargadas de la producción de estos aromas pueden estar presentes en la epidermis, por la cual difunden fragancias o por osmóforos, que son estructuras más complejas (Wiemer, 2009).

### **1. Osmóforos**

Los osmóforos son células secretoras especializadas en la biosíntesis y emisión de atrayentes altamente volátiles para los polinizadores (generalmente aceites). Por lo general, se conforman de tejido secretor y de un estrato de células epidérmicas, las cuales pueden ser modificadas como papilas secretoras (Vogel, 1990; Endress, 1994). Existen dos tipos histológicos de osmóforos: 1) los epidérmicos, donde las sustancias volátiles son secretadas por la epidermis y 2) los mesofílicos,

donde las sustancias volátiles se secretan a los espacios intercelulares del mesófilo de los órganos que los producen y se liberan a través de los estomas. Las secreciones de los osmóforos no son usualmente visibles, ya que son altamente volátiles (Endress, 1994). Debido a la naturaleza de estas células se propone que son una fuente de energía concentrada para algunos polinizadores (néctar o el polen), como en el caso de las familias Orchidaceae, Malpighiaceae y Krameriaceae (Simpson y Neff, 1981).

### **RECOMPENSAS FLORALES EN ANGIOSPERMAS BASALES**

En los linajes de Angiospermas de divergencia temprana los nectarios son raros, lo cual indica que la ausencia de estas estructuras es una condición plesiomórfica. En Amborellaceae, el grupo más basal de las plantas con flores, no hay nectarios, como ocurre también en Austrobaileales y Chloranthaceae. Sin embargo Nymphaeaceae presenta nectarios en los pétalos. En Magnolides los nectarios pueden estar en los sépalos (Piperales, excepto Piperaceae), en los pétalos (Magnoliales) o en los estambres (Magnoliales y Laurales). Bernardello (2007), propone que los exudados estigmáticos, en varias familias de estos linajes basales, pueden actuar como una recompensa alternativa.

En las angiospermas basales, especialmente en las familias Aristolochiaceae, Nymphaeaceae, Magnoliaceae, Annonaceae (*Nymphaea*, *Victoria*, *Schisandra*, *Illicium*, *Hydnora*, *Prosopanche*, *Magnolia*) (Gottsberger, 2015), hay una baja producción de néctar, por lo que ofrecen otros premios, como el polen, sitios de calor y refugio, así como sitios de cría (Sakai 2002; Bolin *et al.*, 2009). Endress (2010) menciona que en especies donde la polinización es poco especializada generalmente es más efectiva, en comparación con las especies donde la polinización es más compleja. En las familias Aristolochiaceae e Hydnoraceae se han descrito osmóforos en la parte interna del perianto. Los compuestos secretados imitan un fuerte olor a carne en descomposición, ya que sus principales polinizadores son dípteros (Sakai, 2002; Bolin *et al.*, 2009; Seymour *et al.*, 2009). En Saururaceae y Piperaceae (del orden Piperales) los osmóforos secretan aceites esenciales, con suaves aromas a lima-limón (Vogel, 1998; de Figueiredo y Sazima, 2000; Castro, 2014).

El presente trabajo plantea conocer las recompensas florales ofrecidas a los visitantes florales en especies de los géneros *Peperomia* y *Piper*, particularmente para la zona de Acahuizotla, un sitio estudiado dentro del proyecto Flora de Guerrero, realizado por el Laboratorio de Plantas

Vasculares y el Herbario de la Facultad de Ciencias, de la Universidad Nacional Autónoma de México (Rzedowski, 1978; Mesa y García, 1997), un sitio que presenta relativamente poco disturbio y una alta abundancia de especies de *Peperomia* y *Piper*. Para ello se plantearon los siguientes objetivos.

### **OBJETIVO GENERAL**

Estudiar las recompensas y atrayentes florales de *Piper amalago*, *Piper scabrum*, *Peperomia questionis* y *Peperomia* sp., ofrecidas a sus visitantes.

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Describir la morfología y anatomía floral de *Piper amalago*, *Piper scabrum*, *Peperomia questionis* y *Peperomia* sp.
- Analizar la histoquímica de las flores e inflorescencias de *Piper amalago*, *Piper scabrum*, *Peperomia questionis* y *Peperomia* sp.
- Identificar los compuestos volátiles de las inflorescencias de *Piper amalago*, *Piper scabrum*, *Peperomia questionis* y *Peperomia* sp.
- Identificar a los polinizadores y sus patrones de forrajeo en *Piper scabrum*, *Peperomia questionis* y *Peperomia* sp.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Especies de estudio*

***Piper scabrum* Lam.** Arbustos vigorosos, erectos, ramificados, de 15 cm a 4 m de altura. Tallos con tricomas blanquecinos extendidos y flexionados, ásperos o bien hispídulos en ramas jóvenes, entrenudos de 1.5 a 8.5 m de largo, de 2 a 3.5 mm de ancho, en ocasiones verruculoso-hispídulos, con tricomas rígidos y erectos o subadpresos. Hojas dísticas, verde oscuro o verde grisáceas cuando secas, rara vez negruzcas, poco lustrosas, algunas veces muy oscuras, ovadas, ovado-elípticas o ampliamente ovado-elípticas, lanceoladas, ápice abruptamente acuminado, base oblícua, un lado de 2 a 7 mm más corto que el otro, redondeada u obtusa en cada lado o el lado más corto algunas veces agudo; láminas de 7 a 21 cm de largo y 3 a 16 cm de ancho; gruesas y firmes cuando frescas, algo traslúcidas, en ocasiones membranosas cuando secas; penninervias, venas secundarias de 3 a 6 pares, curvas en el ápice, estrigoso o hispídulo-adpresas en los nervios principales y venas; en el envés escabras y muy ásperas al tacto, en el haz escabro en toda la superficie, granulosas; glándulas lepidotas en el envés, algunas veces con una lígula, cuando se presenta es ciliada, de 0.5 a 4 mm de largo; pecíolos de 0.4 a 2.8 (5) cm de largo, envainantes sólo cerca de la base, hispídulos o hirsutos; prófilos de 6 a 20 mm de largo, ápice agudo, escasa o densamente pubescentes. Flores en inflorescencias en espigas, opuestas a las hojas, de 6 a 12 (20) cm de largo y cerca de 3.5 a 5 mm de ancho, erectas, solitarias, ligeramente curvas, blanquecinas, color crema o verde grisáceo, ápice obtuso; pedúnculos 6 cm de largo, hispídulos, brácteas triangulares a orbiculares, subpeltadas, densamente puberulentas o ciliadas, de 0.3 a 0.6 mm de largo, teca de 0.2 mm de largo; pubescentes, transversalmente dehiscentes, ovarios obovoides, estigmas 3, sésiles. Frutos obovoides, oblongos a esféricos, de 0.8 a 1 mm de largo, lateralmente comprimidos, pubescentes o puberulento-papilosos, ápice truncado (Ordoñez, 1998).

Distribución: Argentina, Belice, Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, Guatemala, Guyana Británica, Guyana Francesa, Haití, Honduras, Jamaica, México (Campeche, Chiapas, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Tabasco, Veracruz y Yucatán), Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, Puerto Rico, República Dominicana, El Salvador, Surinam, Trinidad y Tobago, Uruguay y Venezuela (Ordoñez, 1998).

Tipos de vegetación: bosque mesófilo de montaña, bosque tropical subcaducifolio, bosque tropical caducifolio, bosque de *Pinus*, bosque de *Quercus*, bosque en galería, bosque tropical perennifolio (Rzedowski, 1978) y selva mediana subcaducifolia (Miranda, 2014).

Fenología: florece y fructifica todo el año (Ordoñez, 1998).

***Piper amalago* L.** Arbustos o árboles pequeños, algunas veces muy ramificados, de 1 a 3 m de altura, algunas veces más de 6 m. Tallos glabros o escasamente puberulentos, ramas glabras o diminutas, algunas veces sólo escasamente puberulentas, entrenudos superiores de 1 a 9 cm de largo y 1 a 3 mm de grueso. Hojas verde olivo en el haz, verde pálido en el envés cuando secas,

formas variables, lanceolado-elípticas a ovado-elípticas u orbicular-ovadas, ápice abruptamente acuminado o largo-acuminado, base obtusa, ampliamente redondeada a aguda, simétricas o en raras ocasiones ligeramente oblícuas; láminas de 5 a 16 cm de largo de 2 a 9.5 cm de ancho, papiráceas o membranas firmes y rígidas, aromáticas al estrujarlas, palmatinervias, de 3 a 5 (7) nervaduras, éstas delgadas, prominentes en ambas superficies, algunas nervaduras laterales más débiles que las otras y no evidentes; venas prominentes, laxamente reticuladas, puntos glandulares en el envés; pecíolo de 5 a 15 mm de largo, glabo, envainante sólo en la base o en raras ocasiones hasta la mitad; prófilos si presentes poco evidentes, de 3 a 8 mm de largo. Inflorescencias en espigas, opuestas a las hojas y terminales, solitarias de 3 a 7 cm de largo o más de 2 a 4 mm de ancho, color crema o verdosas; pedúnculos de 0.5 a 4 cm glabros o puberulentos; raquis densamente puberulento o hirsuto, brácteas lunadas a oval-suborbicular, cuculadas, ciliadas en toda la superficie, algunas veces hirsutas. Flores densamente agrupadas, sésiles, estambres 4, anteras de 0.5 mm de largo, reniformes, teca de 0.2 a 0.3 mm de largo, ampliamente divergente, oblícuas y verticalmente dehiscente; ovarios exsertos, agrupados irregularmente; estigmas 4, a veces 3, sésiles, orbiculares. Frutos exsertos, globosos, de 2mm de largo, glabros, subverruculosos con papilas diseminadas (Ordoñez, 1998).

Distribución: Antillas, Argentina, Belice, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Cuba, Guatemala, Jamaica, Honduras, México (Campeche, Chiapas, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, San Luis Potosí, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán), Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, Puerto Rico, República Dominicana, El Salvador, Trinidad y Tobago y Venezuela (Ordoñez, 1998).

Tipos de vegetación: bosque mesófilo de montaña, bosque tropical subcaducifolio, bosque de *Quercus*, bosque tropical perennifolio (Rzedowski, 1978) y selva mediana subcaducifolia (Miranda, 2014).

Fenología: florece y fructifica todo el año (Ordoñez, 1998).

***Peperomia questionis* G. Mathieu.** Hierba de 10 cm de largo en su etapa vegetativa, con tubérculos globosos amarillo suave de 1 cm de diámetro, de 1-7 hojas por planta, con pecíolo rojo de 2-10 cm, lamina foliar membranosa. Inflorescencias indefinidas blancas, de 1-7 por planta, erecta solamente en estado juvenil, curvada en estado maduro. Bráctea floral elíptica, centralmente peltada. Flor con dos estambres con filamento corto, caducos en el momento de maduración de los frutos. Ovario elipsoide largo, con superficie papilosa, estilo cónico granuloso, estigma terminal globoso, pistilo blanco. Frutos cafés oblongos, sésiles. Pericarpelo enteramente papiloso (Mathieu *et al.*, 2011).

Distribución: Esta especie ha sido reportada en el Bosque Caducifolio Tropical en el estado de Guerrero (Mathieu *et al.*, 2011).

Fenología: Florece entre los meses de julio y agosto (Mathieu *et al.*, 2011).

***Peperomia* sp. N. Castro & S. Vázquez, sp. nov.**

Hierbas terrestres, perennes, de hasta 30 cm de alto, poligamomonoicas. Tallo simple, ocasionalmente ramificado, glabro; ramas de 7-10 cm de alto, diámetro 3 cm; tubérculos globosos, 5 mm de diámetro, blanquecinos. Hojas dísticas, las vegetativas de 9 a 23, basales; lámina ampliamente 0.5–2.8 cm de diámetro, ovada, ápice agudo, margen entero, basalmente peltada, crasa; las reproductivas 4–6, verticiladas, indumento glabro, pecíolo 2-2.2 cm, lámina membranacea, 3.8 - 2.7 cm, ampliamente ovada, ápice agudo, margen entero, base cordada, regularmente peltada, venación palmada, nervios principales 7–10, haz verde oscuro, envés verde claro. Inflorescencias compuestas, terminales, 4.7-15 cm, blanquecinas; raquis de 5.6-6.5 cm, rojizo, brácteas elípticas, centralmente peltadas, igual o ligeramente mayores al diámetro de las anteras. Flores hermafroditas o unisexuales, las hermafroditas en nudos proximales de la inflorescencia; estambres 2; ovario sésil, elipsoidal, pequeño; estilo cónico, estigma capitado, terminal, persistentes en el fruto. Fruto una drupa, 0.5 mm, costillado longitudinalmente.

Distribución: Esta especie ha sido reportada en en el ejido de Acahuizotla, Guerrero.

Fenología: Florece en los meses de julio y agosto.

**Sitio de estudio**

El trabajo de campo se realizó en la localidad de Acahuizotla, 17.361847, -99.467470, perteneciente al municipio de Chilpancingo de los Bravo en el estado de Guerrero. Este estado se encuentra situado al sur de la República Mexicana, limita al norte con los estados de México y Morelos, al noroeste con Michoacán, al noroeste con Puebla, al este con Oaxaca y al sur con el Océano Pacífico. En general, los estudios realizados en este estado se han enfocado más al estudio de las comunidades vegetales y al de la flora, iniciando desde 1980 una colecta intensiva en el estado, teniendo como meta la preparación de la Flora de Guerrero (Mesa y García 1997).

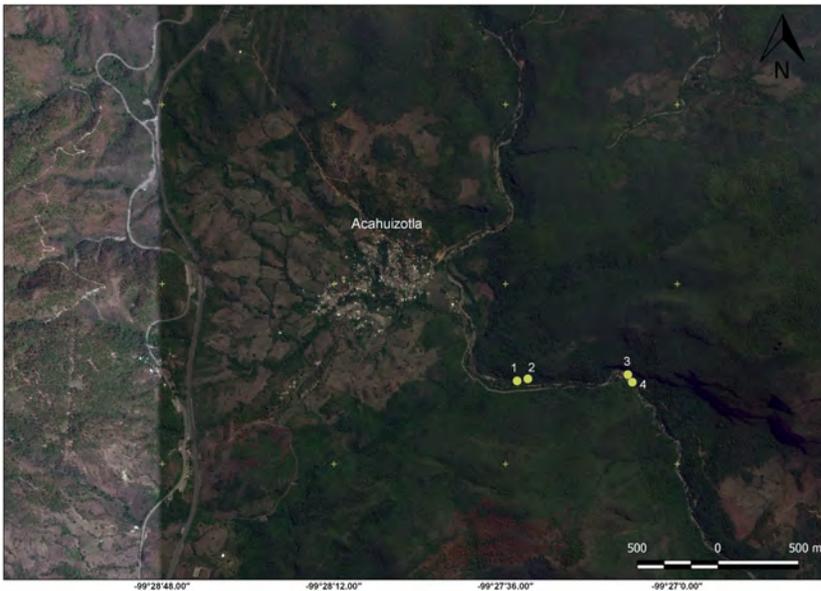
**Diseño del muestreo**

Las especies estudiadas, fueron marcadas por la cantidad de individuos encontrados en floración en el 2015, monitoreándose la duración de ésta por todo un año (Tabla 1). Se realizaron transectos (Fig. 1) para la observación de los visitantes florales y para la colecta de inflorescencias en diferentes estados de maduración. Asimismo, se buscaron flores en antesis, para hacer las observaciones de las estructuras de recompensa (cortes histológicos y la morfología floral) y para la captura de los aromas florales, durante los años 2015 y 2016.

**Tabla 1. Fenología de las especies estudiadas durante el 2015.**

<b>Especie</b>	<b>Etapas de floración</b>
<i>Piper scabrum</i>	Mayo- agosto
<i>Piper amalago</i>	Abril-junio*
<i>Peperomia questionis</i>	Julio- septiembre
<i>Peperomia</i> sp.	Junio-agosto

\*La floración de esta especie fue irregular, en los dos años de estudio.



**Figura 1.** Localización de las especies estudiadas. **1.** *Piper scabrum*, **2.** *Piper amalago*, **3.** *Peperomia* sp. y **4.** *Peperomia questionis*. Los transectos marcados se eligieron por la abundancia de las plantas. Las poblaciones de *Peperomia questionis* y *Peperomia* sp. se encuentran en laderas en las cuales la incidencia de luz varía por la posición del sol.

### Colecta y fijación del material biológico

Se colectaron 30 inflorescencias con distintas etapas de desarrollo de *Piper amalago*, *Piper scabrum*, *Peperomia questionis* y *Peperomia* sp. durante la temporada de floración (Tabla 1). Las muestras se fijaron en glutaraldehído-paraformaldehído (3.5-4%), en amortiguador de fosfatos (PBS) 1M pH 7.2 a 4 °C (Pérez, 2010). Otra parte del material se colectó para realizar pruebas histoquímicas en fresco (López *et al.*, 2005).

### Visitantes florales

Se realizaron observaciones de los visitantes florales de cada una de las especies en la zona de estudio. Estas observaciones se realizaron en los meses de junio a agosto de 2016. En cada especie se observaron 30 inflorescencias, elegidas al azar. Las observaciones se hicieron de 10:00 a 14:00 horas, en periodos de 10 minutos de observación por 15 minutos de descanso. Se obtuvieron 21 horas de observación por especie, en las que se registró la actividad y forrajeo de los visitantes. Se capturaron de forma manual a los visitantes, para identificarlos (modificada de Carrió *et al.*, 2008). La identificación se llevó a cabo por el Dr. Ismael Hinojosa Díaz, del Instituto de Biología, UNAM. Los ejemplares fueron depositados en la colección entomológica del Instituto de Biología, UNAM.

Una vez identificados los visitantes se procesaron para ser analizados en el microscopio electrónico de barrido para observar si contenían granos de polen adheridos a sus cuerpos y sí éstos eran de las especies estudiadas.

## PROCESAMIENTO DEL MATERIAL PARA EL ANÁLISIS HISTOLÓGICO Y MICROMORFOLÓGICO

### Deshidratación

Las muestras fijadas en glutaraldehído-paraformaldehído se lavaron cada 15 minutos con PBS 1M, posteriormente se realizó una deshidratación gradual con etanol (30%, 50%, 70%, 85%, 96% y 100%) por un periodo de una hora en cada concentración. Al concluir el tren de deshidratación se procedió a realizar la inclusión en LR-White (López *et al.*, 2005). Adicionalmente algunas muestras

se prepararon para ser observadas en el microscopio electrónico de barrido (MEB).

### **Infiltración**

Después de la deshidratación de los tejidos se embebieron en una mezcla de LRWhite-Etanol 100% en una proporción 1:1, durante 24 horas para ser pasados por LR-White puro por 24 horas a 4 °C. Una vez terminado el plazo, se incluyeron en cápsulas de gelatina para llevar a cabo la polimerización en una estufa a 56 °C, en ausencia de oxígeno por 12 horas. Los bloques obtenidos se cortaron de 1-4 µm de grosor con cuchillas de vidrio en un ultramicrotomo. Los cortes fueron teñidos con azul de toluidina y montados con resina sintética (López *et al.*, 2005).

### **Procesamiento del material para pruebas histoquímicas**

Se disectaron algunas flores en anthesis de las inflorescencias y se seleccionaron algunos cortes histológicos (Incluidos en LR-White y en otros casos material fresco), en los que se realizaron las siguientes pruebas histoquímicas:

#### **Detección de lípidos**

Se colocaron las flores en fresco en un portaobjetos con unas gotas de Rojo "O" de aceite y Sudan III (en diferentes flores maduras) y fueron montados en jalea glicerizada, para observarlos por microscopía óptica. Los contenidos lipídicos precipitan en naranja rojizo (López *et al.*, 2005).

#### **Detección de polisacáridos insolubles**

De los cortes realizados en LR-White se seleccionaron algunos y se les aplicó directamente ácido peryódico durante 15 minutos, luego fueron lavados con agua para retirar el exceso y se aplicó el reactivo de Schiff durante 15 minutos. Posteriormente se lavaron con agua y después con ácido acético al 2%. Los cortes se dejaron secar y fueron montados con resina sintética. La reacción al dar positiva tiñe de rojo o magenta (López *et al.*, 2005).

#### **Detección de almidón**

De los cortes realizados en LR-White se seleccionaron algunos y se les aplicó directamente el reactivo de Lugol por un minuto. Posteriormente se retiró el exceso y se les colocó un portaobjetos para tomar inmediatamente las fotomicrografías, ya que la reacción no es permanente. La reacción al dar positiva tiñe de morado a negro (López *et al.*, 2005).

### **PROCESAMIENTO DEL MATERIAL PARA EL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO (Bozola y Rusell, 1992)**

Después de llevar a cabo la deshidratación en etanoles graduales, se procesó el material en una desecadora de punto crítico en CO<sub>2</sub> CPD 030Bal-Tec. Este material se montó en portamuestras metálicos sobre cinta conductora de carbón y se cubrieron con oro, en una ionizadora Denton Vacuum Desk-II, para posteriormente ser observados en el microscopio Jeol JSM-5310 LV.

### **PROCESAMIENTO DEL MATERIAL PARA EL ANÁLISIS QUÍMICO**

#### **Captura de compuestos volátiles**

Se colocaron discos para SPE (Solid Phase Extraction; Empore™ SPE Disks C18, diam. 47 mm) contiguos a las inflorescencias, se cubrieron una bolsa plástica para sellar y proteger del agua. Los discos se retiraron después de 72 horas y se colocaron en frascos de vidrio para almacenarlos a -20 °C, para su posterior procesamiento en el laboratorio.

### **Extracción de compuestos volátiles**

Una vez en el laboratorio (24 horas posteriores), con la finalidad de obtener los compuestos volátiles presentes en los discos, se eluyeron con una mezcla de acetato de etilo, diclorometano y hexano en proporción 2:2:1, respectivamente. Esta mezcla fue concentrada con corriente de nitrógeno a temperatura ambiente y se analizó por la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).

### **Condiciones GC-MS**

El análisis se realizó en un cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masas (5973 Mas Selective Detector Hewlett Packard). El volumen de inyección fue de 1  $\mu$ L en modo split (50:1) y la temperatura del inyector, 200 °C. La separación se realizó en una columna capilar Zebbron ZB5 (5% fenil, 95 % metil silicon) de 30 m de longitud x 0.32 mm de diámetro interno x 0.25  $\mu$ m de grosor, con flujo constante de 1 ml/min del gas acarreador (He). Las condiciones del horno fueron: 45 °C de 0 a 2 min, rampa de 5 °C por min hasta llegar a 230 °C, y posteriormente incremento de 10 °C por min hasta los 290 °C, donde se mantuvo 1 minuto. El tiempo total de la corrida fueron 46 min. El detector operó en el modo EI a 70 eV. Los picos mayoritarios se identificaron mediante la comparación de los patrones de fragmentación con los datos de librería (NIST v. 2.01)

Finalmente los compuestos encontrados fueron comparados con la librería “The Pherobase” (El-Sayed AM, 2014) y se categorizaron dependiendo de la actividad que fuera asignada en la base de datos. Asimismo se categorizaron por su naturaleza química.

## RESULTADOS

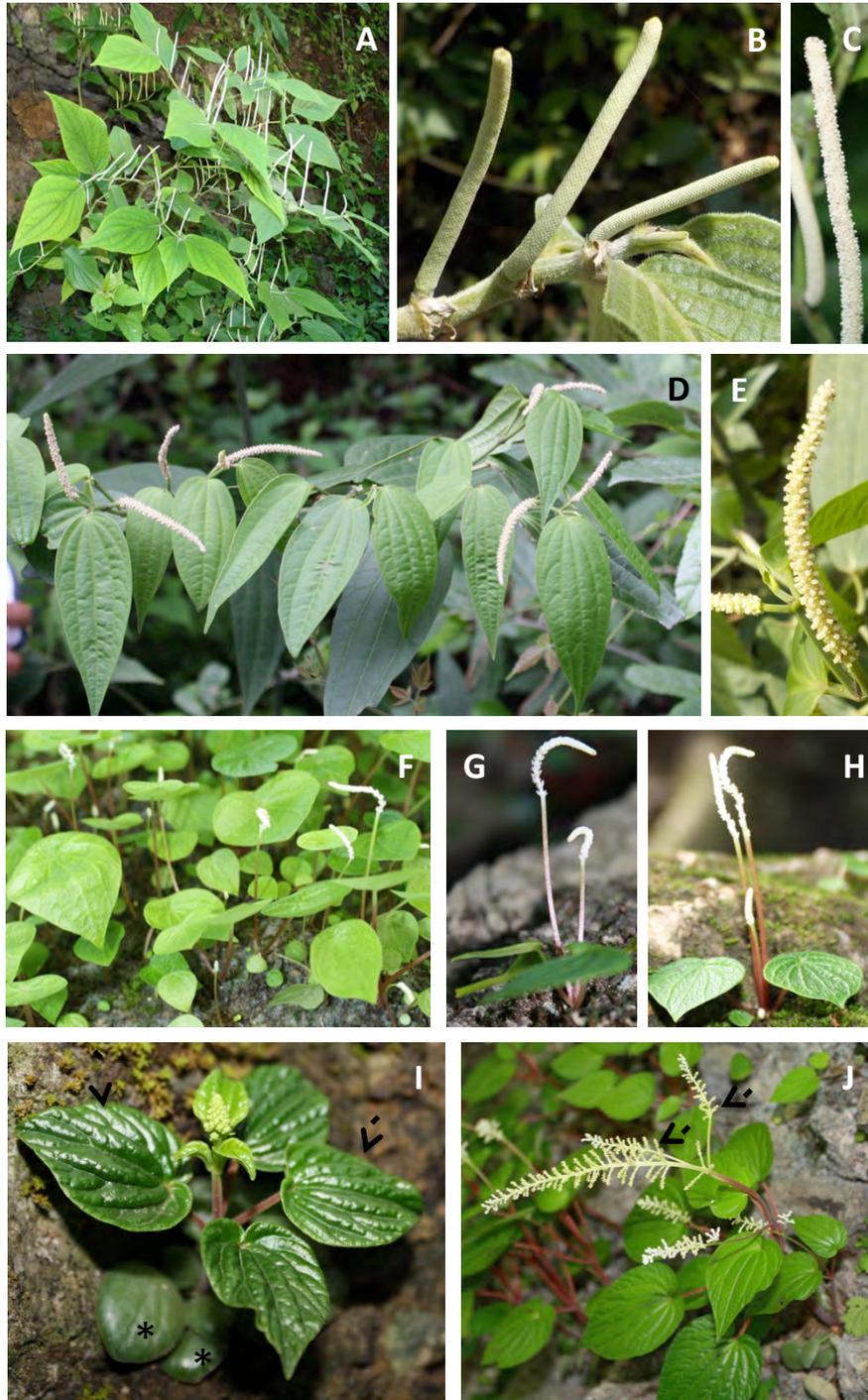
### Morfología de las inflorescencias y flores

*Piper scabrum* y *Piper amalago* presentan una espiga recta (Fig. 2A-E), mientras que *Peperomia questionis* tiene una espiga que se va curvando conforme va madurando (Fig. 2F-H), finalmente *Peperomia* sp. presenta una panícula (espiga de espigas; Fig. 2I-J). La morfo-anatomía de los géneros *Piper* y *Peperomia* pone en evidencia caracteres compartidos. Las cuatro especies de estudio presentan tricomas en el raquis de la inflorescencia; sin embargo, los tricomas presentes en *Piper* son multicelulares y articulados (Figs. 3A-C, G; 5A-E, F-J), mientras en las especies de *Peperomia* son bicelulares y globosos (Fig. 4A, C-I; 5K-O, P-T; Tabla 2). Se observó que todas las flores son desnudas, sin cáliz ni corola, pero cada una presenta una bráctea floral que protege a los órganos reproductivos (Figs. 5M-O, P-Q, 6M-O, S-T). En las cuatro especies estos órganos tienen similitudes estructurales, como una parte basal con tricomas y una zona apical donde se encuentran gran cantidad de estomas (Figs. 3A-G; 4A-H; 5C-E, I-J, M-O; 6 A-B, G, M-N, S-T).

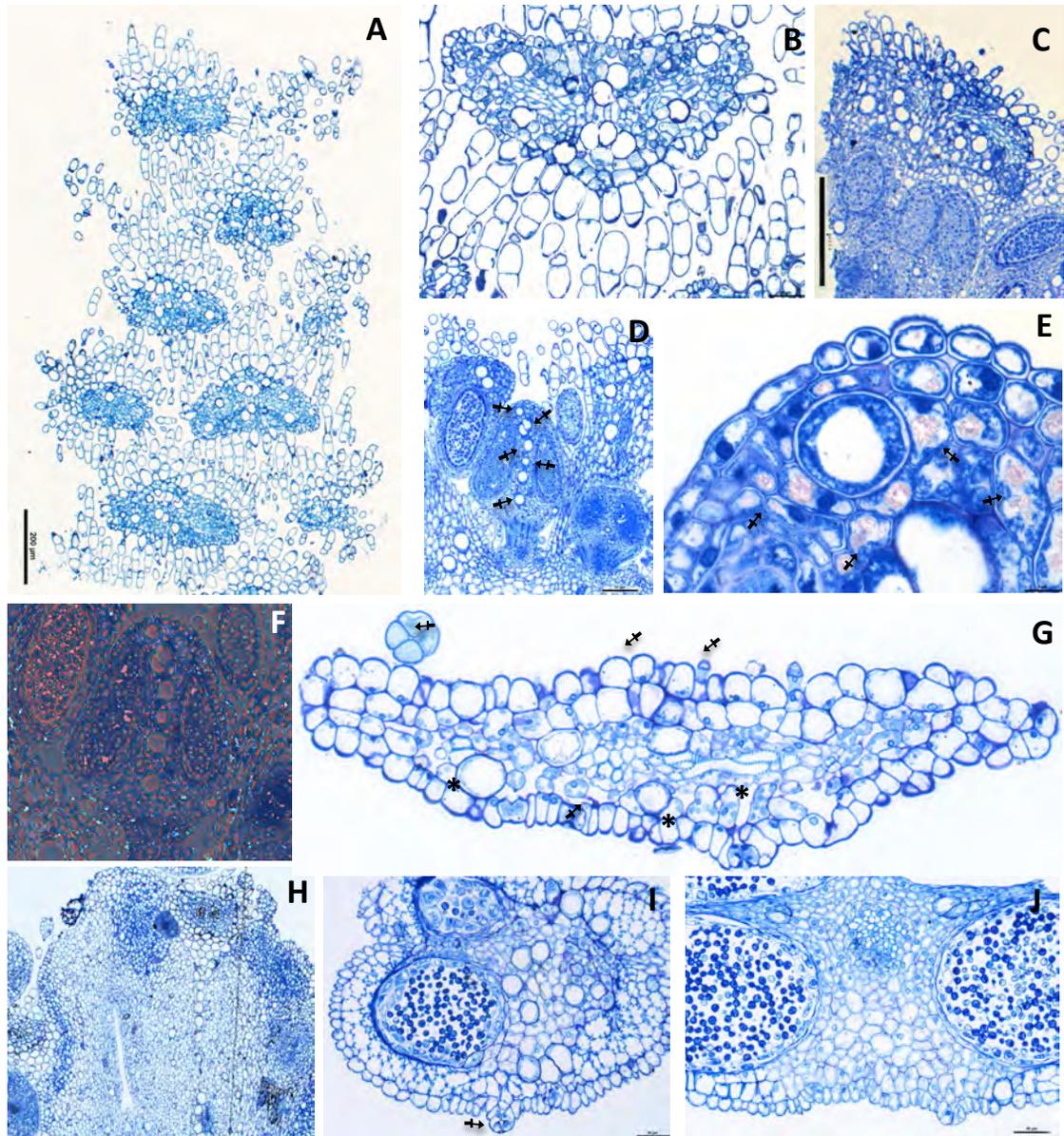
*Piper scabrum*, *Piper amalago* y *Peperomia questionis* tienen flores hermafroditas, mientras que *Peperomia* sp. presenta flores hermafroditas y femeninas (Tabla 2). En las especies del género *Piper*, el gineceo es tri o tetracarpelar, rodeado por un androceo formado por cuatro o cinco anteras (Fig. 6 C, H-J), mientras que en las especies de *Peperomia* el gineceo es unilocarpelar y el androceo biestaminado (Fig. 6 M-N, V). *Piper amalago*, *P. scabrum* y *Peperomia* sp. presentan tricomas glandulares en el ovario (Fig. 6 J-K, V-W), mientras que *P. questionis* presenta tricomas globosos en la zona de inserción entre el estilo y el ovario (Fig. 6P) y en la base del ovario (Fig. 6Q). También se encontró un arreglo particular en los tricomas de las brácteas florales (Tabla 2). Los granos de polen en las especies de *Piper* son monosulcados, con ornamentación microequinada (Fig. 6F, L), mientras que en las especies de *Peperomia* los granos de polen son inaberturados, con ornamentación microequinada-rugulada (Fig. 6R, X). Algunas otras características particulares por especie se describen en la tabla 2.

**Tabla 2. Características florales de las especies de estudio**

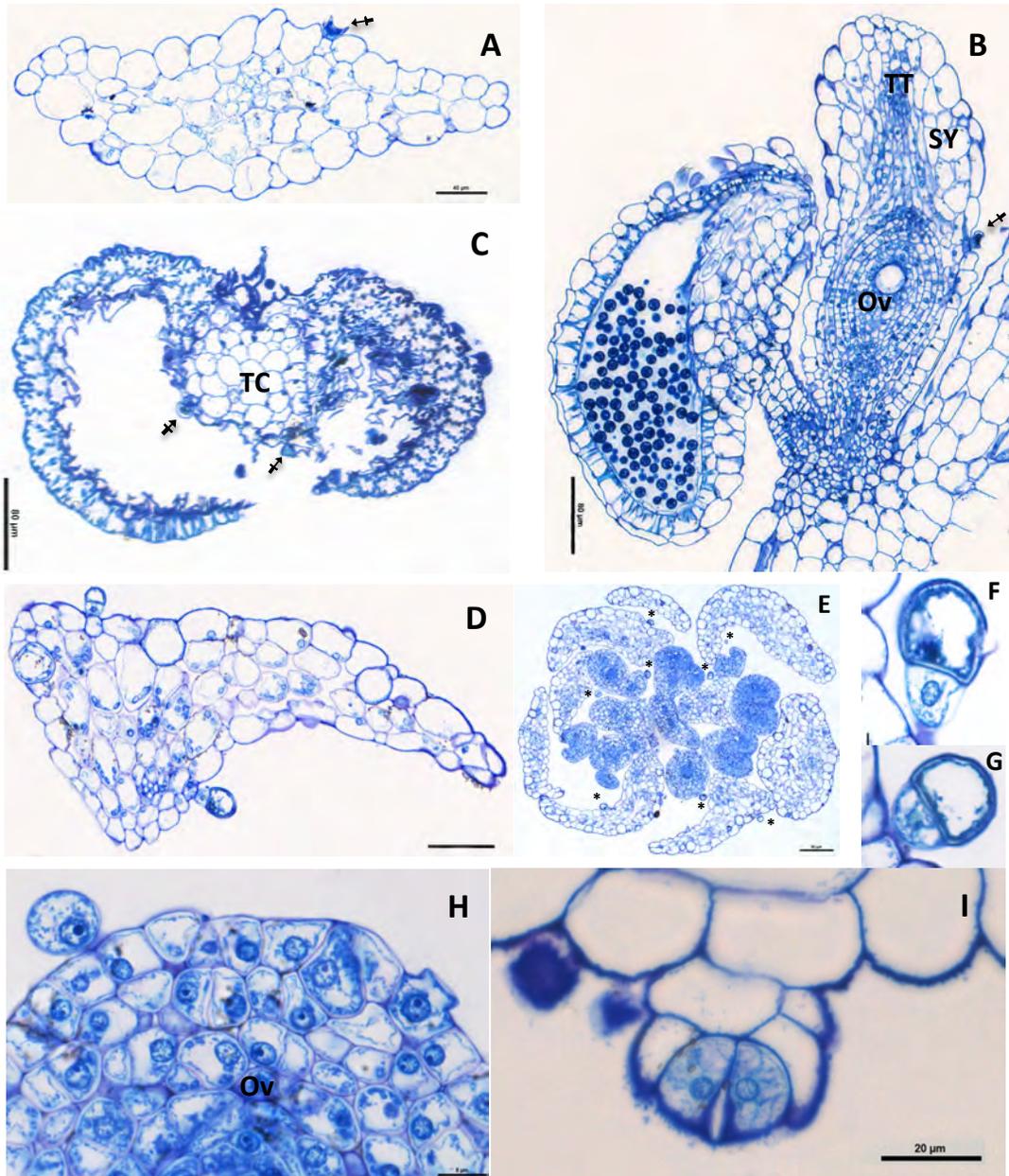
Especie	Tipo de inflorescencia	Abundancia de tricomas en el raquis	Tipos de tricomas en el raquis de la inflorescencia	Cutícula y ceras	Tipos de tricomas de la bráctea y estomas	Disposición de tricomas en la bráctea	Otras características	Número de anteras	Tipo de glándulas en anteras	Número de carpelos	Tipo de glándulas en el ovario y estilo	Polen
<i>Piper scabrum</i>	Espiga con flores hermafroditas	Escasos	Articulados y multicelulares		Articulados multicelulares en abundancia	Desde el raquis hasta la segunda parte	Gran cantidad de estomas en el ápice	4	Arreglo arrosado en la zona del tejido conectivo	3	Tricomas globosos, escasos	Abertura: Monosulcada con ornamentación verrugada Membrana de la abertura lisa Exina: Rugulada microequinada
<i>Piper amalago</i>	Espiga con flores hermafroditas	Abundantes	De dos tipos: Articulados multicelulares y unicelulares globosos	Abundancia de ceras epicuticulares	Articulados multicelulares y globosos bicelulares	Desde el raquis hasta la segunda parte	Gran cantidad de estomas elevados en el ápice	4-6	Arreglo arrosado en la zona del tejido conectivo	3-4	Tricomas globosos de forma ariñonada, alrededor del ovario. Abundancia de estomas en el estilo	Abertura: Monosulcada con ornamentación verrugada Membrana de la abertura verrugada Exina: Microequinada ligeramente rugulada
<i>Peperomia questionis</i>	Espiga con flores hermafroditas	Escasos	Tricomas glandulares		Tricoma glandulares	En la parte adaxial y la parte abaxial se presentan tricomas globosos	Gran cantidad de estomas en el ápice Células de gran tamaño y arregladas de forma arrosada	2	Tricomas glandulares en el conectivo. El endotecio queda expuesto	1	Anillo de tricomas globosos en la unión del estilo con el ovario	Abertura: Inaberturado Exina: Rugulado
<i>Peperomia sp.</i>	Espiga de espiga con flores femeninas y hermafroditas	Abundantes en el raquis como en los ejes secundarios	Tricomas globosos, cónicos y glandulares	Cutícula estriada en los cónicos, los tricomas globosos se encuentran menos abundantes en las ramas laterales	Tricomas glandulares y globosos	En el filamento de la antera y en la parte adaxial junto con tricomas globosos y estomas abultados	En la parte basal se encuentran asociados a estomas abultados. Arreglo arrosado de las células, con una célula central aparentemente glandular	2	Tricomas glandulares ariñonados	1	Anillo en la base del ovario. Arreglo arrosado de las células con la central posiblemente glandular	Abertura: Inaberturado Exina: Microequinada discontinuo-rugulado



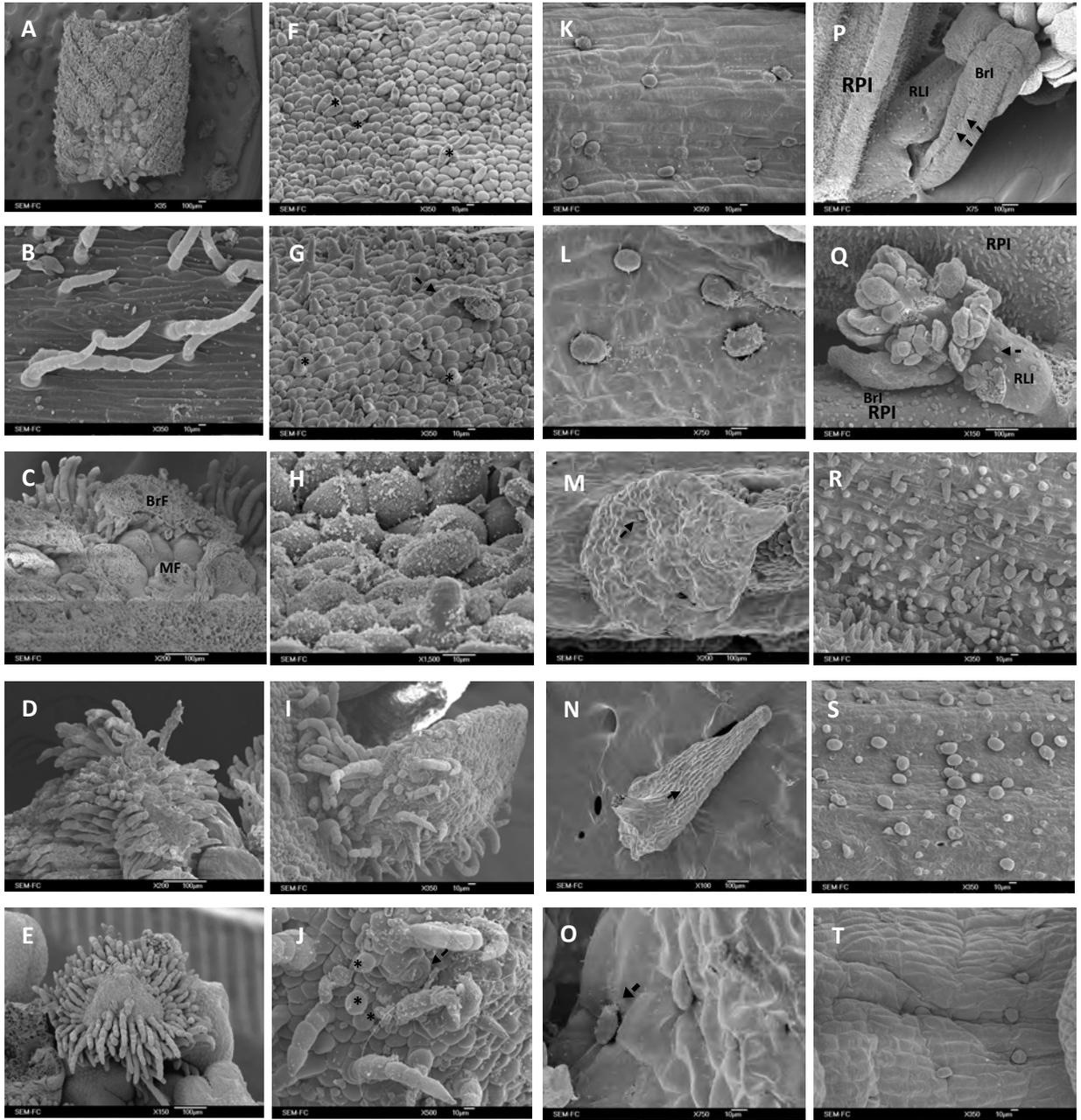
**Figura 2. Hábito y morfología floral.** A-C. *Piper scabrum*. A. Planta arbustiva en etapa de floración. B. Inflorescencias inmaduras que aún cubren a las flores. C. Inflorescencia madura, las anteras sobresalen de la bráctea. D-E. Arbusto de *Piper amalago*. D. Se observan las inflorescencias maduras que sobresalen de las hojas. E. Acercamiento a la inflorescencia, donde se aprecian los gineceos que sobresalen de las anteras. F-H. Inflorescencias de *Peperomia questionis*. F. Planta herbácea donde se aprecian hojas ovadas y las inflorescencias maduras curvadas. G-H. Inflorescencias en vista lateral, donde se aprecia la curvatura de la inflorescencia, las flores más maduras en la parte basal y las más jóvenes en la parte apical. I-J. *Peperomia* sp. I. Planta herbácea al inicio de la floración con dos tipos de hojas; crasas en la parte basal (\*) y hojas ovadas en la parte apical (flecha); se aprecia la Inflorescencia en desarrollo. J. Inflorescencia con flores en diversas etapas de desarrollo y algunos frutos en la parte basal (flecha).



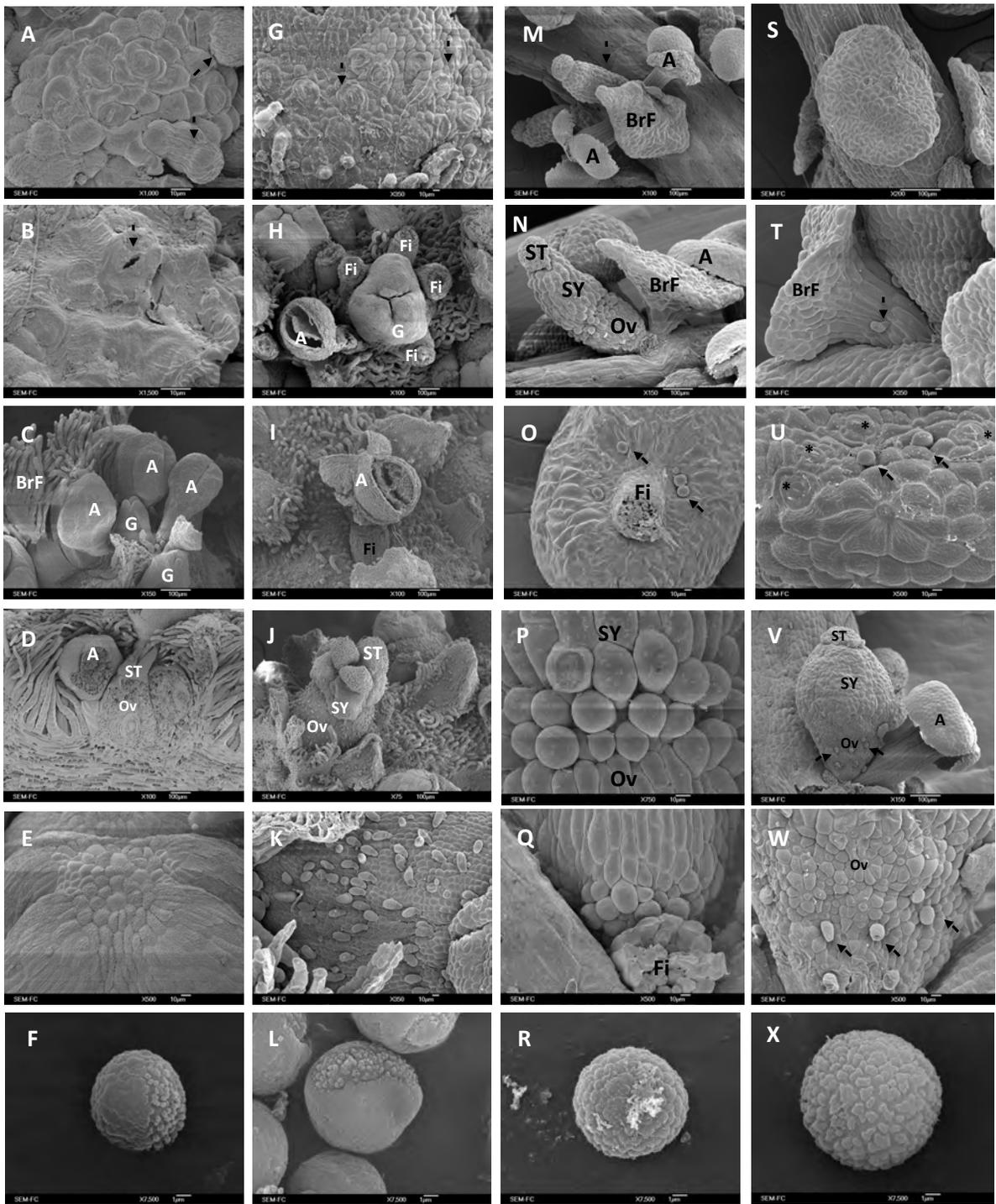
**Figura 3. Anatomía floral de *Piper scabrum* (A-F) y *Piper amalago* (G-K).** A, C, G, I-J. Secciones transversales. B, D, E, F, H. Secciones longitudinales. A. Arreglo de las brácteas florales dentro de la inflorescencia, con gran densidad de tricomas multicelulares. B. Acercamiento a una bráctea, donde se observa la inserción de los tricomas articulados a la epidermis. C. Bráctea floral cubriendo a las anteras en desarrollo; se observan células de gran tamaño en el mesófilo de las brácteas. D. Antera en etapa joven, en donde se observan células de gran tamaño y secretoras en el tejido conectivo (flechas). E. Acercamiento a la zona ápical del tejido conectivo, donde se muestran células de gran tamaño y con citoplasma denso y células circundantes con cristales (flechas). F. En campo oscuro se observan gran cantidad de cristales (puntos brillantes). G. Bráctea floral con tricomas glandulares (flechas) y estomas (\*). H. Bráctea floral. I-J. Antera en etapa de microsporas libres, se observan estomas abultados en la epidermis (flecha) y en el tejido conectivo células de gran tamaño.



**Figura 4. Anatomía floral de *Peperomia questionis* (A-C) y *Peperomia* sp. (D-I). A, C,E-I. Secciones transversales. B-C. Secciones longitudinales. A. Bráctea floral, epidermis globosa y tricomas (flecha). B. Flor en antesis. El gineceo compuesto por un ovario y un estilo ensanchado. En la zona de unión se observan tricomas glandulares (flecha). C. Antera dehiscente retrorsa, la epidermis se contrae dejando expuesto el endotecio con engrosamientos reticulares. En el tejido conectivo se aprecian reminiscencias de tricomas glandulares (flecha). D. Bráctea floral con tricomas glandulares tanto en el lado abaxial como adaxial. E. Arreglo espacial de flores y brácteas en una de la ramas de la inflorescencia. Se muestra la disposición de las brácteas florales que contienen tricomas glandulares (\*) y los primordios florales hacia la parte central. F-G. Acercamientos de tricomas glandulares de las brácteas florales. H. Detalle de un carpelo en el que se muestran partes de los tricomas que se presentan, los cuales tienen un citoplasma denso y un núcleo muy conspicuo. I. Estoma abultado en la región de las brácteas florales. Ov, Ovario; SY, Estilo; TC, Tejido conectivo; TT, Tejido de transmisión.**



**Figura 5. Micromorfología floral.** A-E. *Piper scabrum*. A. Sección de la inflorescencia; se detalla el arreglo de las brácteas florales cubiertas de abundantes tricomas. B. Acercamiento a la parte basal de la inflorescencia. C. Acercamiento a una bráctea floral disectada transversalmente, protegiendo al botón floral. D-E. Vista frontal de la bráctea floral, se aprecia el arreglo de los tricomas multicelulares y el ápice sin tricomas. F-J. *Piper amalago*. F-G. Raquis de la inflorescencia, se detallan tricomas globosos (\*) y multicelulares articulados (flecha). H. Acercamiento a la epidermis, se aprecian ceras y sustancias cristalizadas. I. Vista lateral de la bráctea floral con tricomas multicelulares articulados y globosos en la base. J. Acercamiento a la parte basal de la bráctea floral, se aprecian estomas elevados (flecha), tricomas multicelulares articulados y tricomas globosos (\*). K-O. *Peperomia questionis*. K-L. Raquis de la inflorescencia, se aprecian tricomas globosos en ambas zonas (flechas). M-O. Bráctea floral. Se aprecian la parte adaxial (M), y la parte abaxial (N), se observan tricomas globosos en ambas zonas (flechas). P-T. *Peperomia* sp. P. Vista lateral de una de las ramas de la inflorescencia, la bráctea de la inflorescencia presenta tricomas globosos (flechas) en la parte abaxial. Q. Vista lateral del ápice de una de las ramas de la inflorescencia, cuyo raquis presenta tricomas glandulares (flechas); el eje principal de la inflorescencia muestra tricomas cónicos. R. Eje principal de la inflorescencia con abundantes tricomas cónicos de cutículas estriada y tricomas globosos. S. Raquis de una rama lateral con tricomas globoso. T. Acercamiento a la bráctea floral con tricomas globosos. BrF, Bráctea floral; BrI, Bráctea de la inflorescencia; MF, Meristemo floral; RLI, Raquis lateral de la inflorescencia; RPI, Raquis principal de la inflorescencia.



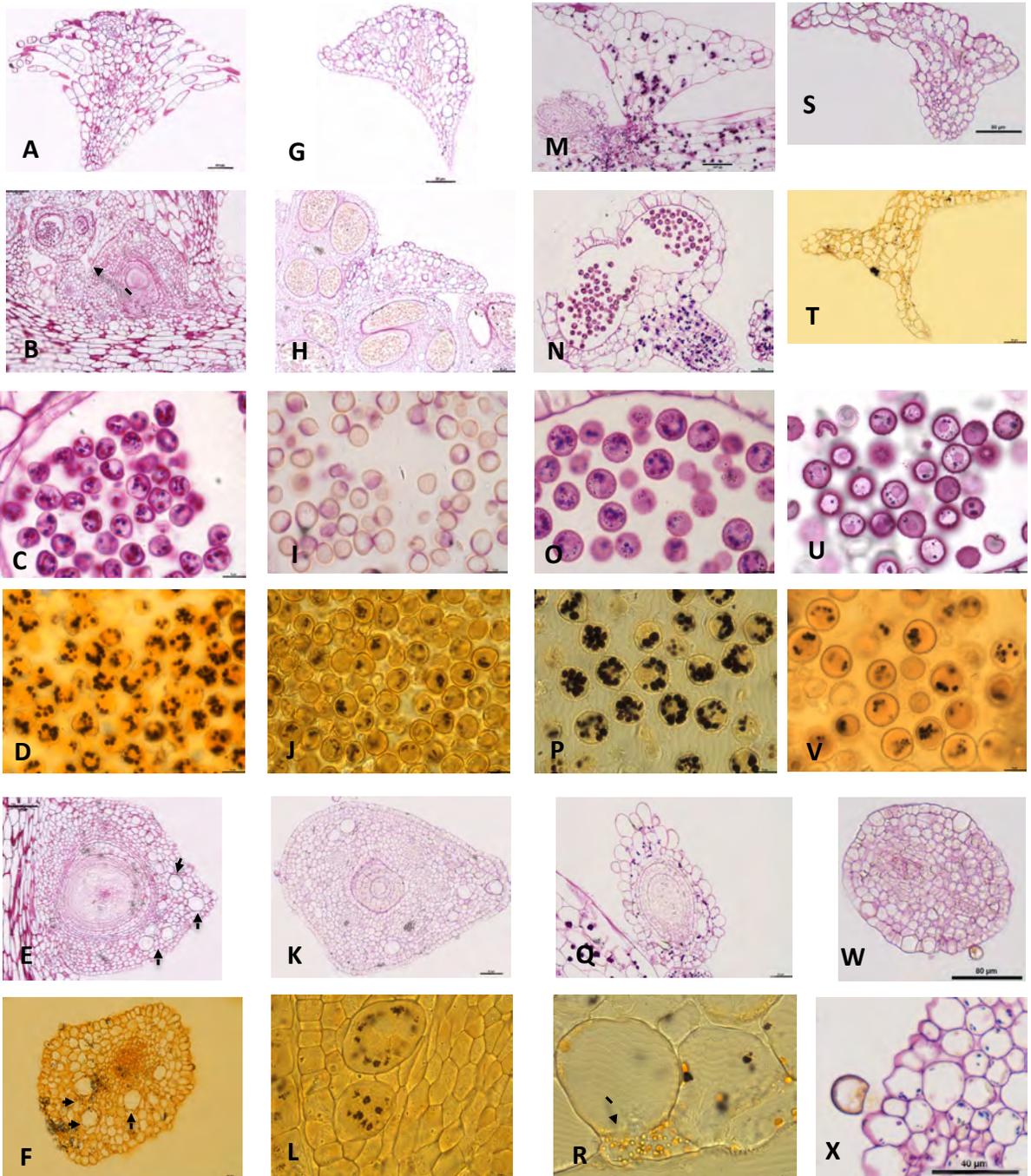
**Figura 6. Micromorfología floral y polen. A-F. *Piper scabrum*.** A. Acercamiento a la zona apical de la bráctea donde se aprecia gran cantidad de estomas y algunos tricomas globosos. B. Zona apical de la inflorescencia con estomas cubiertos y secreción (flecha). C. Botón floral. Gineceo rodeado por las anteras tetrasporangiadas. D. Corte longitudinal de la flor, donde se observa el ovario y el estilo. E. Acercamiento de la epidermis papilosa del tejido conectivo apical de una antera. F. Grano de polen monosulcado. **G-L. *Piper amalago*.** G. Zona apical de la bráctea floral, se detallan gran cantidad de estomas. H. Vista apical de una flor; el gineceo está rodeado por cuatro filamentos de anteras y una antera dehiscente; el raquis presenta gran cantidad de tricomas multicelulares articulados. I. Antera dehiscente. J. Gineceo tricarpelar en etapa madura, compuesto por ovario, estilo y estigma. K. Acercamiento a la epidermis del ovario, se observa gran cantidad de tricomas glandulares. L. Grano de polen monosulcado. **M-R. *Peperomia questionis*.** M. Flor en antesis compuesto por dos anteras abiertas, un gineceo unicarpelar. N. Vista lateral de la flor. Se observa la bráctea floral peltada, protegiendo al gineceo. O. Parte dorsal de una antera, se detallan tricomas globosos (flechas). P. Zona de inserción del ovario con el estilo, se aprecian gran cantidad de tricomas glandulares. Q. Parte basal del ovario, se muestran gran cantidad de tricomas. R. Grano de polen inaberturado. **S-X. *Peperomia* sp.** S. Bráctea floral redondeada. T. Vista lateral de la bráctea floral, se aprecian tricomas en el pedicelo (flecha). U. Acercamiento a la epidermis de la bráctea floral. Se detalla el arreglo arrosado de las glándulas subepidérmicas, la presencia de estomas (\*) y tricomas glandulares elevados (flecha). V. Flor en antesis en vista lateral; se observan tricomas glandulares en el ovario (flechas). W. Acercamiento a los tricomas glandulares del ovario (flechas) y glándulas en forma de roseta. X. Grano de polen inaberturado. A, Antera; BrF, Bráctea Floral; G, Gineceo; Fi, Filamento; Ov, Ovario; ST, Estigma; SY, Estilo.

### Pruebas histoquímicas para detección de polisacáridos insolubles y almidón

Se aplicaron las siguientes pruebas histoquímicas de APS (para detectar polisacáridos insolubles) y Lugol (para almidón) sobre diferentes estructuras (Tabla 3). En las especies de *Piper* como en *Peperomia* no se detectaron polisacáridos insolubles sobre los tricomas glandulares de las brácteas florales (Fig. 5 A, G, M, S); sin embargo, en las brácteas de *Peperomia* sp. se detectó almidón en la parte apical, cercana a una célula secretora (Fig. 5T). Los granos de polen contienen gran cantidad de polisacáridos insolubles y almidón contenidos en el citoplasma de la célula vegetativa (Fig. 5B-D, H- J, N-P, U-V). En el citoplasma de las glándulas del gineceo de *Piper amalago* y *Peperomia questionis* se detectaron trazas de almidón y algunos polisacáridos insolubles (Fig. 5L-R). En *Piper scabrum* y en *Peperomia* sp. no se detectaron polisacáridos insolubles ni almidón (Fig. 5 E-F, W-X) en las estructuras secretoras.

**Tabla 3. Resultados de las pruebas de APS y Lugol en las especies de Piperaceae.**

Estructura	Especie							
	<i>Piper scabrum</i>		<i>Piper amalago</i>		<i>Peperomia questionis</i>		<i>Peperomia</i> sp.	
Prueba	APS	LUGOL	APS	LUGOL	APS	LUGOL	APS	LUGOL
<b>Bráctea floral</b>	NEGATIVO	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO	NEGATIVO
<b>Antera</b>	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	POSITIVO
<b>Tapete</b>	-	-	POSITIVO	-	-	-	-	-
<b>Filamento</b>	-	-	-	-	POSITIVO	-	-	-
<b>Granos de polen</b>	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
<b>Glándulas en el ovario</b>	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO



**Figura 7. Pruebas histoquímicas. A-C, E, G-I, K, M-O, Q, S, U, W-X.** Prueba de Ácido periódico-reactivo de Schiff. **D, F, J, L, P, R, T, V.** Prueba de Lugol. **A-F. *Piper scabrum*** A-B. Prueba negativa en bráctea floral y anteras (Flecha). **C-D.** Granos de polen con gran cantidad de polisacáridos insolubles y almidón en el citoplasma. **E-F.** Sección transversal del gineceo. Respuesta negativa, en las células secretoras (flechas). **G-L. *Piper amalago*.** G-I. La bráctea floral y las anteras no contienen polisacáridos insolubles en las células secretoras. Reacción positiva en el citoplasma de los granos de polen para polisacáridos insolubles y para almidón. **K-L.** Sección transversal del gineceo. **L.** Se detalla la presencia de almidón en el citoplasma de las células secretoras. **M-R. *Peperomia questionis*.** Reacción positiva de los granos de polen para polisacáridos insolubles y almidón. **P-R.** Gineceo en antesis, positivo para almidón en las células secretoras, acompañado posiblemente por lípidos (flecha). **S-X. *Peperomia* sp.** Prueba de lugol, dio positivo para célula secretora en la zona áptica de la bráctea. **T-V.** Prueba negativa para almidón. **T.** Prueba positiva para almidón en célula secretora de la bráctea floral. **W-X.** Sección transversal del gineceo, positivo para polisacáridos insolubles en los tricomas glandulares.

### Visitantes florales

Los principales visitantes de *Piper scabrum*, *Peperomia questionis* y *Peperomia* sp. se incluyen en tres grupos principales. El primer grupo es el de las abejas, que representan el 67.12%, de las visitas, los escarabajos con el 18.33% y los sírfidos con 14.53% del total muestreado (Fig. 6 A). Las especies de abejas fueron *Lasioglossum* sp.1, *Lasioglossum* sp.2, *Lasioglossum* sp.3, *Augochlora* sp. y *Friesomelitta nigra*. Por otro lado se observaron tres especies de sírfidos y una especie de escarabajo del género *Oulema*.

Para *Piper scabrum* y *Peperomia questionis* el visitante floral más frecuente fue *Lasioglossum* sp.1., las otras especies de abejas y sírfidos mostraron menor frecuencia (Fig. 6B-C). El grupo de las abejas, presentan dos periodos de mayor actividad, el primero a las 11:00 h (periodo de mayor intensidad de luz) y el segundo cercano a las 14:00 h. De las 63 horas totales de observación de las tres especies, se registró un total de 105 individuos de *Lasioglossum* sp.1, 52 de otras abejas, 37 de sírfidos y 17 de escarabajos.

En general y considerando la frecuencia de visita y comportamiento, las abejas fueron los visitantes más importantes para *P. scabrum* y *P. questionis*. En cuanto a *Peperomia* sp. el visitante *Oulema* sp. presentó una mayor frecuencia de visitas, seguido de *Lasioglossum* sp.1 (Fig. 6D).

En *Piper scabrum* el visitante floral más frecuente fue *Lasioglossum* sp.1, seguido de *Friesomelitta nigra*, ambos teniendo un pico de visita alrededor de las 11:00 h. Por otra parte se presentó un segundo pico de visitas a las 14:00 h, en el que se encuentran la mayoría de los demás insectos identificados (Fig. 6B). Sin embargo, el grupo más importante de transportadores de polen siguen siendo las abejas, ya que los individuos observados contenían en sus cuerpos gran cantidad de granos de polen, desde las corbículas hasta el tórax (Fig. 7), lo cuál fue corroborado a través de las imágenes de MEB.

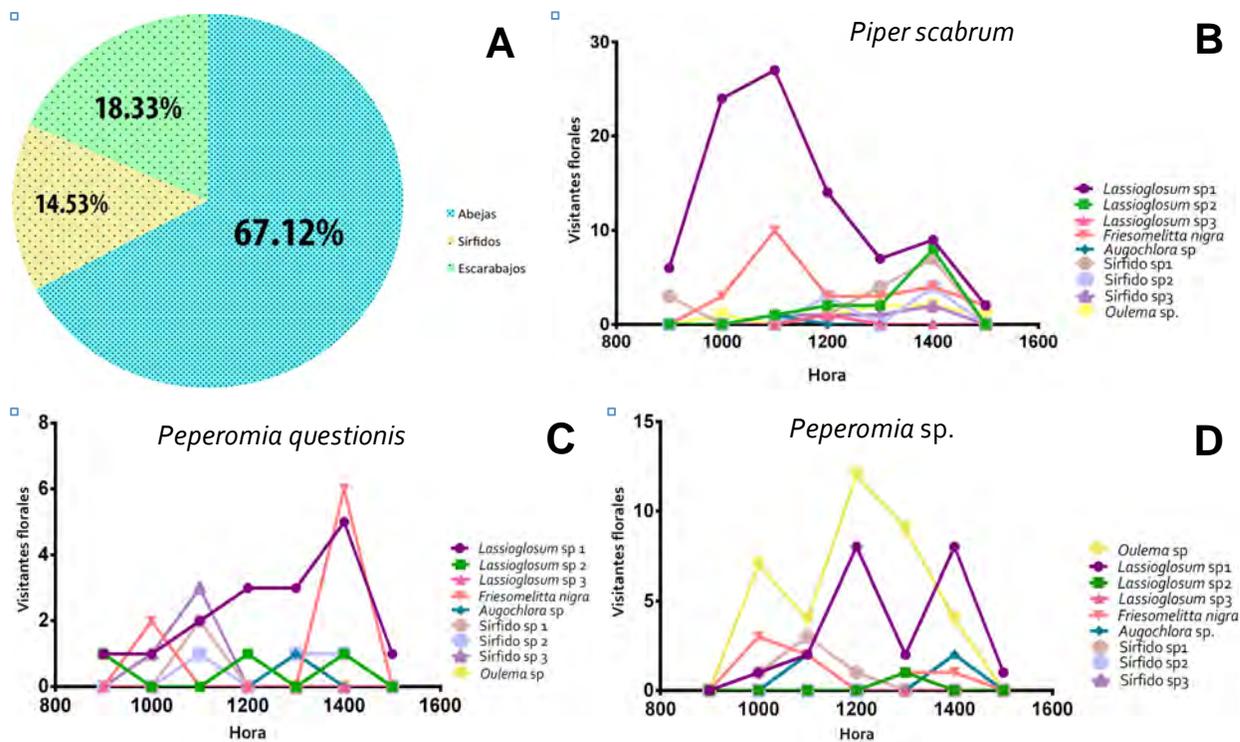


Figura 8. Visitantes florales. A. Distribución del tiempo total de los grupos que visitaron a las especies de estudio, en total se obtuvieron 63 horas de observación. B. Número de visitantes florales de *Piper scabrum*. C. Número de visitantes florales de *Peperomia questionis*. D. Número de visitantes florales de *Peperomia sp.* Las visitas están estandarizadas como: número de visitantes \* hora de visita.

### Patrones de forrajeo de los polinizadores de *Piper scabrum*

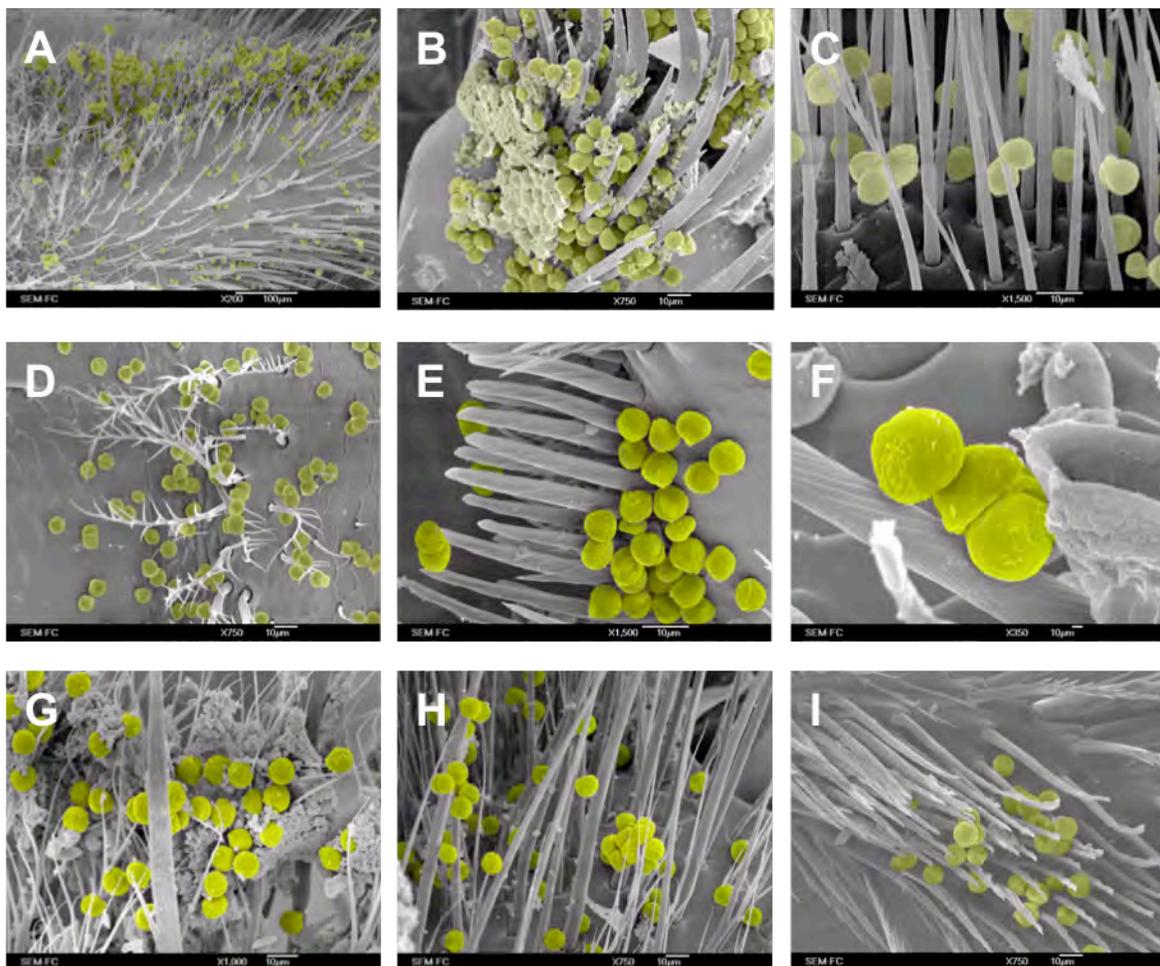
En *Piper scabrum* se presentaron dos tipos de forrajeo, cada uno asociado a un grupo de insectos. El primero (el grupo de las abejas) consistía en llegar a una inflorescencia madura y recorrerla de la base hasta el ápice, posteriormente descendían por el otro lado de la inflorescencia, hasta llegar a la base o retirarse a otra. Durante este recorrido las abejas se detenían constantemente para coleccionar el polen y colocarlo en las escopas (*Lassioglossum*, *Auglchlora*), aunque también había abejas que coleccionaban los aceites de las flores y lo guardaban en sus corbículas (*Friesomelitta nigra*; Fig. 7A-I).

El segundo tipo de forrajeo se asoció con el grupo de los sírfidos, el cual consistió en posarse en la inflorescencia y mover su tórax de tal forma que “se simulaba una pseudocópula”, con la flor. Estos visitantes fueron frecuentes y en algunas ocasiones recorrían la inflorescencia. Del movimiento torácico, algunos granos de polen se adhirieron a esta zona.

En las observaciones previas al muestreo de campo se detectaron sobre *Piper amalago*, visitantes florales similares a los encontrados en *Piper scabrum*, sin embargo, la fenología irregular de esta especie dificultó que se pudiera aplicar la misma metodología, como en las otras especies.

**Patrones de forrajeo de los polinizadores de *Peperomia questionis* y *Peperomia* sp.**

En las especies de *Peperomia*, el forrajeo de las abejas y de los sírfidos fue similar al presentado sobre las inflorescencias de las especies de *Piper*. Sin embargo, en este grupo existe un tercer tipo de forrajeo, debido a la presencia del escarabajo *Oulema* sp., el cual llegaba a las inflorescencias, recorría las flores y se detenía mucho más tiempo y en ocasiones permanecía estático.



**Figura 9. Granos de polen sobre los cuerpos de los visitantes florales. A-C.** Corbícula de *Friesomelitta nigra* con granos de polen de *Piper scabrum*. **B-C.** Acercamiento de la corbícula con granos de polen. **D-E.** Abdomen de *Lasioglossum* con granos de polen de *Piper scabrum*. **F.** Acercamiento a los granos de polen de *Piper scabrum*. **G-I.** Granos de polen de *Peperomia* sobre *Lasioglossum* (**G-H**) y sobre *Friesomelitta nigra* (**I**).

## Aromas florales: compuestos volátiles

Los compuestos volátiles encontrados en las especies de *Piper* y *Peperomia* estudiadas por GC-MS se resumen en las tablas (4-6). Se identificaron para *Piper scabrum* 17 picos mayoritarios, 12 en *Peperomia questionis* y 16 en *Peperomia* sp. En *Piper amalago* no se realizó el estudio, debido a que no se encontraron suficientes individuos floreciendo. Se puede observar que la mayoría de los compuestos encontrados son terpenos e hidrocarburos saturados, los cuales están implicados en la atracción para ciertos grupos de visitantes florales según “The Pherobase” (El-Sayed AM, 2014

**Tabla 4. Compuestos volátiles identificados en *Piper scabrum*.**

Pico	Tiempo Retención min	Abundancia total %	Compuesto	Función según “The Pherobase”	Familia estructural
1	3.342	32.061	Éster butílico de ácido acético	A	Éster
2	4.633	0.457	Éster pentílico de ácido acético (aroma de plátano)	-	Éster
3	5.789	3.347	2-Tujeno	AL	Monoterpeno
4	5.936	21.844	$\alpha$ -Pineno	A,AL,P,K	Monoterpeno
5	7.009	0.809	$\beta$ -terpineno	A	Monoterpeno
6	7.062	3.813	$\beta$ -Pineno	A,AL,P	Monoterpeno
8	8.548	3.224	4-Tujanol/Hidrato de sabinina	-	Monoterpeno
9	8.725	1.089	5,7-dimetilundecano	-	Hidrocarburo saturado
10	9.933	0.528	Hexametilciclotrisiloxano	-	Siloxano cíclico
11	15.068	2.833	Geranyl butyrate/Butirato de geranilo	-	Éster
12	16.949	1.181	Permetil 101A/Nonano, 2,2,4,4,6,8,8-heptametil-	-	Hidrocarburo saturado
13	23.37	0.543	5,8-Dietil-6-dodecanol	-	Hidrocarburo
14	25.787	1.099	Ácido antranílico	-	Hidrocarburo aromático
15	27.992	0.605	Hexametilciclotrisiloxano	-	Siloxano cíclico
16	31.158	2.217	Ácido etano peróxico	-	Peróxido
17	38.822	4.843	Crodamol DOA	-	Éster

A: Alomona; AL: Alomona; K: Kairomona; P: Feromona

**Tabla 5. Compuestos volátiles identificados en *Peperomia questionis***

Pico	Tiempo Retención min	Abundancia total %	Compuesto	Función según “The Pherobase”	Familia estructural
1	3.347	17.599	Éster butílico de ácido acético	A	Éster
2	5.794	2.281	2-Tujeno	AL	Monoterpeno
3	5.941	16.103	$\alpha$ -Pineno	A,AL,P,K	Monoterpeno
4	7.061	3.661	$\beta$ -Pineno	A,AL,P	Monoterpeno
5	7.545	0.787	$\alpha$ -Mirceno	A,AL,P,K	Monoterpeno
6	8.553	10.199	D-Limoneno	P	Terpeno
7	16.271	0.578	1,2,3,4-Tetrahydro-2-hidroxi-5,8-dimetoxi-2-(1-metil-1,3-ditian-1-il)naftaleno	A	Hidrocarburo aromático policíclico
8	20.338	3.206	1,1,4a-Trimetil-5,6-dimetilendeca-hidronaftaleno	A,P	Hidrocarburo aromático policíclico
9	20.893	1.074	Cedrandiol	A	Sesquiterpeno
10	21.111	1.325	Naftaleno	A	Hidrocarburo aromático
11	25.804	4.569	Naftalenona	A,P	Hidrocarburo aromático policíclico
12	30.497	7.517	5,10-Dietoxi-2,3,7,8-tetrahydro-1H,6H-dipirrolol[1,2-a;1',2'-d]pirazino	A	Hidrocarburo aromático policíclico

A: Alomona; AL: Alomona; K: Kairomona; P: Feromona

**Tabla 6. Compuestos volátiles identificados en *Peperomia* sp.**

Pico	Tiempo Retención	Abundancia total	Compuesto	Función según "The Pherobase"	Familia estructural
1	3.342	32.861	Éster butílico de ácido acético	A	Éster
2	4.633	0.427	Éster pentílico de ácido acético (aroma de plátano)	A	Éster
3	5.788	3.495	2-Tujeno	AL	Monoterpeno
4	5.936	22.01	$\alpha$ -Pino	A, AL, P, K	Monoterpeno
5	6.313	0.459	1,2-Dihidro-2,4-difenil-quinazolina	-	Alcaloide
6	7.015	0.037	$\alpha$ -Tujeno	AL	Monoterpeno
7	7.062	3.59	$\beta$ -Pino	A,AL,P	Monoterpeno
8	8.435	0.739	Biciclo[4.1.0]hept-4-en-3-ol,3,7,7-trimetil-, [1S-(1 $\lambda$ ,3 $\lambda$ ,6 $\lambda$ )]-	-	Hidrocarburo aromático policíclico
9	8.547	2.963	$\alpha$ -Tujeno	AL	Monoterpeno
10	9.603	0.751	2-metil-Decano	-	Hidrocarburo
11	13.482	0.483	2,5-Dimetoxi-4-(metilsulfona) anfetamina	-	Alcaloide
12	15.074	2.446	$\alpha$ -Pino	A,AL,P	Monoterpeno
13	16.79	1.231	3,6- Dimetiloctano	-	Alcano
14	16.943	1.7	2,2,11,11-tetrametil- Dodecano	-	Hidrocarburo
15	23.375	2.129	Éster de octilo	-	Éster
16	27.998	0.436	Trímero cíclico de dimetil-siloxano	-	Siloxano

A: Alomona; AL: Alomona; K: Kairomona; P: Feromona

## DISCUSIÓN

En la familia Piperaceae las recompensas y atributos florales no habían sido considerados para su estudio, posiblemente por la simplicidad de las flores: desnudas, diminutas y agrupadas en inflorescencias tipo espiga, por lo que se consideraba que el viento era el vector que facilitaba la polinización (de Figueiredo y Sazima, 2000), sin embargo existen reportes de la presencia de abejas y sírfidos en especies sudamericanas como visitantes florales (Semple, 1974; Vogel, 1998; de Figueiredo y Sazima, 2000, 2007; Wisniewski, 2014b; Gottsberger, 2015), sin profundizar sobre el papel que pueden tener como polinizadores o sin considerar la existencia de posibles recompensas. Se encontró que las flores de *Piper scabrum*, *Piper amalago*, *Peperomia questionis* y *Peperomia* sp. presentan sistemas de atracción y recompensas para sus polinizadores. La importancia del presente trabajo radica en el hallazgo y descripción de las estructuras secretoras en las flores reducidas, pero que son importantes para la polinización, como sucede en otros grupos de plantas. Estos componentes estructurales y sus secreciones, a su vez, interactúan entre sí, para que se atraer visitantes y se lleve a cabo la polinización y flujo de gametos.

### Biología y morfología floral en Piperaceae

Las flores en la familia Piperaceae son desnudas, es decir, no presentan cáliz ni corola, aunque cada flor tiene una bráctea que protege a los órganos reproductivos. Generalmente han sido catalogadas como bisexuales en su gran mayoría, sin embargo, en el género *Piper* y *Peperomia* se han observado algunas modificaciones a esta condición (Burger, 1972; Tucker, 1982; Lei y Liang, 1998; Jaramillo y Manos, 2001; Remizowa *et al.*, 2005; Samain *et al.*, 2009).

Las flores en *Piper* son muy reducidas; sin embargo exhiben patrones definidos en la variación, los cuales son importantes para la clasificación del género. En las especies americanas, la mayoría de las flores son bisexuales, mientras que las especies asiáticas y africanas son unisexuales con sistemas diocos y monoicos. Se menciona que la dioecia pudo ocurrir por aborto de estambres en flores femeninas o carpelos en flores masculinas (Lei y Liang, 1998). Además de esta importante diferencia, la mayor parte de la variación ocurre en el número de estambres, ya que pueden presentar de uno a diez, aunque la mayoría de las especies americanas tienen cuatro estambres y los taxones asiáticos tres. El número de estambres parece estar correlacionado con el número de las flores en las inflorescencias (Jaramillo y Manos, 2001). Las flores unisexuales se

presentan en el ápice de la inflorescencia, donde se ubica el meristemo y se asocia a una alta aglutinación floral (Tucker, 1982). Aunque existen especies americanas que presentan inflorescencias estaminadas y hermafroditas (*Piper khorthalsii*, *P. arboreum*, *P. betel* y *P. kehelii*) donde el arreglo de las flores no es tan apretado (Jaramillo y Callejas; 2004). En el caso de *Piper scabrum* y *P. amalago* no se encontró evidencia de flores unisexuales, ya que en todas las muestras observadas hubo una constancia floral, es decir, siempre se observaron flores hermafroditas en un arreglo altamente aglutinado, lo cual podría descartar la idea de que la unisexualidad sea producto del gran número de flores en las inflorescencias.

En cuanto al género *Peperomia*, la información es escasa debido a la complejidad de la delimitación de las especies, aunque en las especies estudiadas, al parecer se conserva la bisexualidad de las flores, sin embargo se han observado algunas modificaciones a esta condición, un ejemplo de ello es *Peperomia fraseri* C. DC. Esta especie presenta una inflorescencia ramificada (espiga de espigas) en la cual hay flores hermafroditas y flores pistiladas en la región distal de una misma rama (Remizowa *et al.*, 2005), como ocurre en *Peperomia* sp., del presente trabajo. Posiblemente esto se deba al arreglo de las inflorescencias, donde se incrementa la frecuencia de flores unisexuales; o bien la presencia de flores unisexuales sea una novedad en el género *Peperomia*, ya que no se había documentado la unisexualidad en ninguna de sus especies, por lo cual sería importante una revisión en las inflorescencias compuestas del género. Por su parte Sokoloff (2006), menciona que las únicas especies de Piperaceae que presentan “*terminal flower-like structures*” o TFLS (por sus siglas en inglés) es en *Piper arboreum* y *Peperomia fraseri*, en las cuales sólo se producen remanentes de flores en la zona apical o incluso son sustituidas por vellosidades. Estructuras similares se han observado en *Houttuynia* (Saururaceae), una familia de Piperales, que al parecer presenta flores terminales pistiladas y algunas flores estaminadas. De acuerdo con Sokoloff (2006) las “flores verdaderas” (flores hermafroditas) probablemente representan la condición plesiomórfica en angiospermas y la pérdida de identidad floral es probablemente una condición apomórfica, que ocurrió muchas veces durante el curso de la evolución de las estructuras terminales, en varias especies, por lo que sería de suma importancia la revisión de las inflorescencias de la familia, para conocer la ocurrencia de la unisexualidad en estos géneros.

Además de la presentación floral, en Piperaceae se ha reportado que existen barreras espacio-temporales como la hercogamia y la dicogamia (protandria y protoginia). La protandria, protoginia y la autoincompatibilidad son mecanismos muy eficientes para prevenir la autopolinización, los dos primeros mediante el desfase de la maduración entre los órganos reproductores y el último sobre el efecto de inhibición ejercido en la germinación del polen o la unión entre gametos, producidos por el mismo individuo o grupos de individuos genéticamente similares (Imery-Buiza y Cequea-Ruíz, 2008; Singer, 2009). En varias especies de *Piper* y *Peperomia* se ha observado cierto grado de autoincompatibilidad, como en *Piper nigrum*, *P. arieianum* y *P. methysticum* (Martin y Gregory, 1962; Marquis 1988), *Piper aduncum*, *P. mollicomum*, *P. regnelli*, *P. guadichaudianum* y *Pothomorphe umbellata* (de Figueiredo y Sazima, 2000), *Peperomia armondii*, *P. blanda*, *P. circinnata*, *P. hilariana*, *P. rotundifolia*, *P. rubricaulis*, *P. urocarpa* (de Figueiredo y Sazima, 2007) y *P. bracteata* (Castro, 2014). Sin embargo, los experimentos no son del todo confiables, debido a que al emasculiar las flores éstas se dañan o mueren (de Figueiredo y Sazima, 2000 y obser. per.). En 2015 Valentin-Silva *et al.*, reportaron que *Piper vicosanum* presenta protoginia incompleta, a consecuencia del largo periodo de receptividad del estigma (hasta 14 días). Esta longevidad parece resultar de la exposición secuencial de las papilas estigmáticas receptivas y de la dehiscencia asincrónica de las anteras para liberar a los granos de polen. Estas estrategias reproductivas en conjunto, reducen la autopolinización y promueven las oportunidades para que se lleve a cabo la polinización biótica (Brunet, 1996; Runions y Geber, 2000). La dicogamia puede también prevenir la autopolinización dentro de las flores, pero esto raramente evita la autogamia y la geitonogamia en las flores hermafroditas (Barret *et al.*, 1994), por lo que también sería importante saber si estas características están presentes en las especies estudiadas, dado que la fructificación observada, aunque no fue cuantificada fue relativamente alta.

Los caracteres morfológicos descritos en *Piper scabrum*, *P. amalago*, *Peperomia questionis* y *Peperomia* sp. han mostrado patrones similares en el arreglo de las flores, en la distribución de tricomas glandulares y globosos, así como la presencia de estomas en la región de la bráctea, que pudieran participar secretando compuestos atrayentes. En el género *Piper*, la anatomía floral es constante a lo largo de las especies hermafroditas estudiadas, variando en el número de estambres o carpelos (Tucker, 1980; Jaramillo y Manos, 2001; Valentin-Silva *et al.*, 2015).

La abundancia de tricomas en el raquis de las inflorescencias es un carácter poco mencionado para la familia, a pesar de que es constante en las especies estudiadas. Estas

estructuras al ser observadas con microscopio electrónico de barrido muestran diversidad, ya que pueden ser unicelulares, multicelulares o tener ramificaciones; sin embargo no les ha atribuido alguna función relacionada con posibles recompensas por su naturaleza secretora, como se detectó en el presente trabajo. Tucker (1982) observó que *Piper marginatum* tiene gran cantidad de tricomas en las brácteas, las cuales son semejantes a las encontradas en *Piper scabrum* y *P. amalago* (tricomas en la base y estomas en la parte apical de la bráctea), pero Tucker no menciona que participen en la atracción de visitantes; aunque en las brácteas se detallan células de aceites epidérmicas que no se encontraron en las especies estudiadas o bien podrían estar inmersas en el aerénquima. También se describe que en *Piper amalago* (aff. a *Piper amalago*; Tucker, 1982) no se observa patrón en los tricomas de las brácteas, puesto que se distribuyen al azar y en apariencia no son secretores.

En una publicación sobre *Peperomia*, Samain *et al.* (2009) muestra imágenes en las cuales se pueden apreciar depresiones epidérmicas (posiblemente osmóforos o células secretoras) y tricomas globosos distribuidos en la región del ovario. Sin embargo, la funcionalidad se ha dejado de lado, a pesar de esto se podría suponer que son caracteres preservados como lo menciona Vogel (1998) por la distribución y la abundancia de éstos. Tanto en *Peperomia* sp., *P. questionis* y *P. parnassifolia* (De Oliveira *et al.*, 2008) se determinó que los tricomas del ovario y las células secretoras contienen lípidos. Por lo expuesto, posiblemente estas estructuras pueden tener una función para la interacción (atracción o recompensa) con polinizadores. El único estudio donde se han reportado nectarios es en *Peperomia magnoliifolia* donde se describen como nectariólos (nectarios reducidos, algunas veces a una sola célula) en las brácteas florales que contenían un líquido rico en azúcar que atraía a moscas (Vogel, 1998). Se podría decir que los tricomas glandulares encontrados en las flores de *Peperomia* (tanto en el presente trabajo como en otros) son modificaciones de nectarios, por el número de células que lo componen (o más precisamente nectariólo<sup>1</sup>, según Vogel, 1998).

De acuerdo a Simpson y Neff (1981) un elaióforo evolucionó de un nectario debido a que tiene una organización celular y contenidos citoplasmáticos particulares (aceites), que bien podría

---

<sup>1</sup> NECTARIÓLOS. Son pequeños nectarios con pocas células que son módulos glandulares o idioblastos, que pueden ocurrir solos o en grupos y son anatómicamente heterogéneos. Según Bernardello (2007) existen cuatro tipos de nectariolos: glándulas, idioblastos, cúmulos de células mesenquimáticas, así como tricomas. En consecuencia, existe cierta superposición entre los nectariolos, los nectarios tricomatosos y los nectarios epiteliales. Teniendo en cuenta la gran variabilidad de estas estructuras epidérmicas de pocas células, parece más fácil referirse a ellas claramente como nectarios epidérmicos, aunque pueden contener algunas células subepidérmicas. Las estructuras secretoras más extensas, conspicuas, más complejas y frecuentemente vascularizadas, se denominan nectarios y ubican en los verticilos florales (Bernadello, 2007).

formar parte de un complejo sistema de recompensas para los visitantes/polinizadores. Posiblemente este sistema apareció desde las primeras angiospermas y luego se perdió o ganó a lo largo de la evolución. Sin embargo para algunas especies la existencia de tricomas glandulares sólo se ha descrito en frutos y están correlacionados con la dispersión de éstos (Martínez *et al.*, 2006; Frenzke *et al.*, 2016). Esta secreción podría surgir de las mismas células secretoras que se encontraron en las flores y pudieran tener una doble función; sin embargo se necesitan estudios más rigurosos para comprobar la dualidad de estas células secretoras.

La presencia de cristales en la región del tejido conectivo de las anteras es otro carácter poco mencionado en las especies de *Piper*, aunque podría estar implicado en la deshiscencia de la antera (Burger, 1972) o en la defensa contra los polinizadores, por la abundancia y el tamaño de éstos en este tejido. En *P. vicosanum* se ha reportado que los granos de polen son liberados asincrónicamente, debido a la maduración tardía de algunas anteras de la flor (Valentin-Silva *et al.*, 2015). Argumentando que esta cualidad en el desfase de la liberación de los granos de polen podría ser producto de una polinización por engaño, ya que las señales visuales son aprendidas por los visitantes y las flores tienen olor débil o nulo, disminuyendo la capacidad de los polinizadores para reconocer una flor sin acceso al polen como fuente de alimento, lo que favorece el mecanismo de engaño (Dafni, 1984).

Características como tricomas en el raquis de la inflorescencia, en las brácteas, ovario y anteras, así como glándulas secretoras de lípidos en el ovario, granos de polen con gran cantidad de almidón constituyen un sistema de recompensas para algunos polinizadores, mientras que los atributos florales (flores agrupadas en inflorescencias y aromas) constituyen el sistema de atracción. Considerando estos dos sistemas altamente especializados se incrementa la probabilidad de que las inflorescencias sean visitadas por abejas o sírfidos y con ello se facilite la polinización cruzada. Por estas razones se menciona que en especies cuyas flores ofrecen recompensas, se ejercen dos presiones selectivas sobre la planta; por una parte la necesidad de protección contra los insectos que explotan, sin proporcionar ningún beneficio para la planta, y por otro la necesidad de ofrecer recompensas más atractivas para los polinizadores (Hargreaves *et al.*, 2009). Este conflicto puede jugar un papel clave en la evolución de aromas por parte del polen y de otros rasgos florales, como la presencia del néctar, que también sufre de sobreexplotación por los insectos no polinizadores (Farré-Armengol *et al.*, 2013).

## Interacción planta-polinizador en Piperaceae

Las interacciones entre insectos y las inflorescencias de Piperaceae han recibido poca atención por el reducido tamaño de los órganos sexuales y la carencia de perianto. Debido a esto, por mucho tiempo se propuso que la forma en la cual se transportaban los granos de polen era abiótica, es decir por viento o agua (Martin y Gregory, 1962; Faegri y van der Pijl, 1979; Samain, 2008). Sin embargo, la visita por parte de tres grupos principales de insectos como las abejas, sírfidos y escarabajos pequeños, en las tres especies de estudio (*Piper scabrum*, *Peperomia questionis* y *Peperomia* sp.), pone en evidencia su papel en la polinización biótica del grupo. Asimismo, estudios realizados en Sudamérica informan sobre la presencia de abejas y sírfidos como visitantes florales (Semple, 1974; Vogel, 1998; de Figueiredo y Sazima, 2000, 2007; Wisniewski, 2014). Además cabe mencionar que la presencia de granos de polen en las corbículas de *Friesomelitta nigra*, en las escopas de *Lasioglossum* sp., *Augochlora* sp. y en el tórax de otras abejas pequeñas, es una evidencia del transporte de los granos de polen entre flores y entre inflorescencias.

Las evidencias mostradas en el presente trabajo sugieren que las abejas son los facilitadores de la polinización más frecuentes en las tres de las cuatro especies de este estudio (la cuarta no pudo ser analizada), a causa de las constantes visitas y la cantidad de granos de polen adheridos en sus cuerpos. En *Piper scabrum*, *Lasioglossum* sp. 1 y *Friesomelitta nigra* fueron las abejas más frecuentes y posiblemente pueden ser los polinizadores por la presencia de granos de polen adheridos a su cuerpo (toráx, corbículas, patas delanteras, cabeza y antenas). La interacción entre *Piper* y abejas han sido reportadas para otras especies de Piperaceae en Sudamérica, en donde se considera a los géneros *Trigona*, *Tetragonisca*, *Exomalopsis*, *Augochloropsis*, *Apis*, insectos importantes para que se lleve a cabo la polinización biótica (Semple, 1974; de Figueiredo y Sazima, 2000; Gottsberger, 2015), en gran medida por lo pegajoso del polen, lo cual facilita la adherencia al cuerpo de la abejas y de que éstas visitan varias flores en diferentes espigas.

En cuanto a las dos especies de *Peperomia* mexicanas es la primera vez que se registra la presencia de abejas como visitantes y facilitadoras de la polinización. En *P. questionis* las especies de *Lasioglossum* y *Friesomelitta nigra* son los polinizadores/visitantes más eficientes, con altas tasas de visita y grandes cantidades de polen adheridos en sus cuerpos. Es importante resaltar que estos visitantes presentaron sus picos de frecuencia más altos entre las 13:00-14:00 horas, momento en el cual el sol incide directamente sobre las plantas y posiblemente esto ocasiona la emisión de aromas para atraer a los polinizadores. En *Peperomia* sp. el visitante más frecuente fue el escarabajo *Oulema* sp., sin embargo por el tiempo que éste invierte (más de 10 min) en las

inflorescencias podría deberse a que estos insectos son considerados robadores (Proctor *et al.*, 1996; Duffy y Johnson, 2011). Aunque en casos particulares el tiempo que invierten se relaciona una efectiva polinización, incrementando la producción de frutos y semillas (Ramírez, 1995; Silberbauer-Gottsberger, 2013). Por otra parte las abejas en esta especie también se encuentran presentes, siendo *Lasioglossum* sp. 1 la más frecuente, y posiblemente sea la especie que aporte más al transporte de los granos de polen, como se ha reportado en otros trabajos (Martínez-Peralta y Mandujano, 2011; Munguia-Soto, 2016).

Las anteriores observaciones sugieren que el sistema de atracción de las especies de *Peperomia* posiblemente es más débil que en *Piper*. Las especies de *Peperomia* estudiadas son herbáceas, las inflorescencias tienen menor longitud, menor cantidad de flores por inflorescencias y menor número de anteras, por consiguiente menor cantidad de polen, los cuales son factores importantes en este grupo para atraer polinizadores. En *Nymphaea ampla* (Nymphaeaceae) se ha relacionado que las características florales (como la presencia de grandes tépalos, gran cantidad de granos de polen, el tamaño de la flor) influyen en la visita de polinizadores más generalistas, como escarabajos y abejas (Barrios y Ramírez, 2008). En *Saururus cernuus* (Saururaceae; Piperales) los componentes florales sugieren que tanto el aroma dulce, las anteras, los estigmas, el color y forma de la inflorescencia (cola de lagartija: por la curvatura que presenta) podrían ser adaptaciones para la atracción de polinizadores y de esta forma asegurar la producción de frutos (Thien *et al.*, 1994). Por lo que se ha pensado que las primeras angiospermas eran plantas herbáceas con ciclos de vida cortos, flores con abundante polen y de tamaño reducido (Tiffney, 1984; Taylor y Hickey, 1990).

También es de considerarse que la floración en las especies estudiadas ocurre en distintos tiempos, primero en las especies de *Piper* y después en las de *Peperomia*, considerando que las necesidades por parte de las abejas difieren entre cada floración. Las abejas hembras son las que colectan los granos de polen, néctar y aceites para proveer y alimentar a sus larvas (Pellmyr y Thien, 1986; Wright y Schiestl, 2009), por lo cual se propone que las visitas menos frecuentes que presentan las dos especies de *Peperomia* estudiadas, podrían ser producto de abejas que apenas están acumulando recursos para formar el nido o alimentar a sus larvas. Se sabe que el polen de calidad contiene aminoácidos, importantes para el crecimiento de larvas en las abejas (De Groot, 1953; Roulston y Cane 2002), y para las especies de abejas sociales con ciclos de cría relativamente cortos, este polen es importante para la alimentación larval y para asegurar el éxito del nido

(Goulson *et al.*, 2005). Como resultado, las abejas solitarias tienden a exhibir una mayor constancia en las flores, provocando una ventaja para la planta (Benitez-Vieyra *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2007; Makino, *et al.*, 2007; Hanley *et al.*, 2008).

La presencia de sírfidos sobre inflorescencias de *Piper* ha sido reportada en varias especies sudamericanas, proponiéndolos como especies polinizadoras; sin embargo, la inconstancia floral y la abundancia de éstos varía entre estudios, aunque facilitan la polinización cruzada y la geitonogamia (Semple, 1974; de Figueiredo y Sazima, 2000; Wisniewski, 2014). El patrón de forrajeo al parecer no facilita que los sírfidos queden bañados de polen, debido a que la región de contacto es muy limitada: región distal del tórax (obs. pers.), partes bucales y quinta esternita (de Figueiredo y Sazima, 2007). Sin embargo, Semple (1974) afirma que el polen es pegajoso, lo cual le ayuda a adherirse al cuerpo de los visitantes y por lo tanto, pueden ser polinizadores.

Para las especies de *Peperomia* las visitas de sírfidos fueron ocasionales. La información de visitantes es escasa, solamente se han reportado para *Peperomia armondii*, *P. hilariana*, *P. urocarpa*, que *Salpingogaster* sp., *Ocytamus* sp. y *Leucopodella* sp. llegan a las inflorescencias de manera inconstante, algunos autores argumentan que a pesar de que los sírfidos no visitan tantas flores, pueden volar distancias largas, promoviendo la polinización cruzada (Banks, 1951; Lorence, 1985). En sistemas como *Epipactis thunbergii* (Orchidaceae) la presencia de incrementa la polinización, debido a las altas de visita (Sugiura, 1996). .

### **Aromas florales implicados en la polinización de las plantas con semilla (Piperaceae)**

Los aromas florales involucrados en la interacción planta-polinizador son metabolitos secundarios distribuidos a lo largo de las angiospermas y se considera que su función primaria es atraer polinizadores (Dobson, 1994; Raguso, 2001; Metcalf, 1987; Schiestl 2013; Wright y Schiestl, 2009). Las moléculas más comunes, que se han identificado son los compuestos alifáticos, los benzoides, los fenilpropanoides, los terpenos (mono y sesquiterpenos), algunos compuestos ramificados de 5 carbonos, compuestos nitrogenados y sulfurados. Muchos de éstos tienen una función de atraer insectos y se ha determinado que, dependiendo de sus características estructurales, se pueden relacionar con algunos grupos más que con otros (Knudsen *et al.*, 2006).

En la familia Piperaceae existe un gran número de reportes donde se ha demostrado el notable potencial de las amidas como insecticidas, moluscidas y agentes antifúngicos (Dyer *et al.*, 2004), dejando de lado los componentes que podrían estar implicados en la atracción de visitantes o polinizadores. A pesar de ello se menciona, que las inflorescencias de algunas especies de *Piper*

presentan “ligeros aromas dulces, similares a cítricos” (de Figueiredo y Sazima, 2000), pero no se han identificado los componentes químicos responsables. Éste es el primer estudio en el que se le da énfasis a los componentes volátiles florales y sus posibles implicaciones en la atracción de polinizadores de *Piper* y *Peperomia*, ya que más de 50% de los compuestos identificados han sido reportados con funciones de atracción (Tabla 7). Se menciona que, al menos 12 compuestos son los más usuales en las familias investigadas y que son volátiles florales asociados principalmente a la atracción de polinizadores, por ejemplo, los himenópteros son más afines a los mono y diterpenos; mientras que los coleópteros a los hidrocarburos y los dípteros a derivados del benceno y ésteres (Dobson *et al.*, 2006; Anexo 1). Aunque se pueden atribuir funciones adicionales, como la defensa y la protección contra algunas presiones abióticas como lo han mencionado otros autores (de Moraes *et al.*, 2001; Pichersky y Gershenzon, 2002; Hammer *et al.*, 2003).

De acuerdo con Knudsen *et al.* (2006) en la evolución de la interacción planta-insecto, algunos insectos llegaron a superar la repulsión a ciertos compuestos florales y con ello la polinización en las primeras angiospermas se basó en la sincronización del ciclo de vida sexual de los insectos con el de las plantas, de modo tal que los volátiles florales servían como señales para los lugares de encuentro y de apareamiento para los insectos polinizadores. Esta hipótesis se apoya en varias observaciones: (1) los aromas en estructuras reproductivas están presentes en la mayoría de las angiospermas basales y en algunas gimnospermas (Gnetales, Cycadales y Pinales), (2) existen aromas florales muy similares a muchos repelentes contra herbívoros generales, (3) todos los grupos de insectos involucrados en la polinización son fitófagos en las gimnospermas como una condición ancestral, (4) un alto porcentaje de flores funcionan como sitios de apareamiento (termogénesis) en angiospermas basales (Thien *et al.*, 2000, 2003; Bernhardt *et al.*, 2003); sin embargo, la producción de olor es metabólicamente costosa, lo cual es altamente regulada para no disminuir la adecuación de las plantas (Vogel, 1983; Wright y Schiestl, 2009).

Tabla 7. Compuestos volátiles florales comunes en las familias de las angiospermas (Tomado de Knudsen *et al.*, 2006).

Compuestos	Porcentaje en las angiospermas
Limoneno	71%
Ocimeno	71%
Mirceno	70%
Linalol	70%
$\alpha$ -Pino	67%
Benzaldehído	64%
$\beta$ -Pino	59%
2-Metil-hidroxibenzoate	57%
Alcohol bencilico	56%
2-Fenil-etanol	54%
Cariofileno	52%
6-Metil-2-5heptenona	52%

Los compuestos volátiles florales dan a los polinizadores información acerca de la localización, abundancia y calidad de las recompensas florales (Howell y Alarcón, 2007; Wright y Schiestl, 2009). Se sabe que algunos volátiles florales son atrayentes generalistas (Li *et al.*, 2008; Johnson y Hobbhahn, 2010), mientras que otros son específicos (Schiestl *et al.*, 2003; Schiestl y Glaser, 2012). El hecho de que las especies de Piperaceae que se estudiaron comparten compuestos, explicaría la similitud de los grupos de polinizadores. Las preferencias innatas de abejas y sírfidos es la base para que usen, los aromas florales como guías y relacionarlos con las recompensas florales ofrecidas (Farina *et al.*, 2007; Raguso, 2001; Arenas y Farina, 2012). En abejas sociales (como *Apis* y *Bombus*) se argumenta que la emisión de aromas de una planta anuncia las recompensas florales y la asistencia de un polinizador a las señales aromáticas proporcionan ventajas, tanto a la planta como al polinizador (Wright y Schiestl, 2009). Es importante destacar que polinizadores como las abejas aprenden los olores y los recuerdan por más tiempo que las señales visuales (Menzel 1985; Kunze y Gumbert, 2001).

La información obtenida en este trabajo pone en evidencia que la mayoría de las estructuras y modificaciones que presentan las flores constituyen un sistema de recompensa y de atracción altamente especializados para los polinizadores, ya que varios de los compuestos encontrados han sido reportados como principales atrayentes para algunas especies de plantas (Anexo 1). En el orden Piperales las novedades evolutivas, como grandes corolas se observan en algunos géneros como *Aristolochia* (Aristolochiaceae), *Hydnora* (Hydnoraceae), *Saururus* y

*Anemopsis* (Saururaceae; Thien *et al.*, 1994; Azuma *et al.*, 1999b; Endress, 2001, 2008, 2010; Barrios y Ramírez, 2008) pero no en Piperaceae. Sin embargo, la corola no es la única que influye en la atracción, algunos grupos carecen de perianto, pero en ellos las brácteas, la agrupación de las flores (inflorescencias), el color blanco (predominante) y la gran cantidad de granos de polen, son el atractivo para los polinizadores (de Groot, 1953; Roulston y Cane, 2002).

Muchas de las flores en las angiospermas basales son bisexuales y protóginas, como en *Trimenia*, *Piptocalyx*, *Austrobaileya*, *Illicium*, *Brasenia*, *Cambomba*, *Nymphaea*, *Victoria*, *Ondinea*, *Chloranthus* y *Sarcandra* (Endress, 2001), posiblemente como respuesta para evitar la autopolinización, debido a que un gran número de especies son visitadas por escarabajos y ocasionalmente por abejas, trips y moscas. La presencia de escabajos se encuentra relacionada principalmente a estas flores que emiten calor (flores termogénicas) y aromas florales que favorecen las visitas, como sitios de descanso y ovoposición (Endress, 2001). Otra posible casua por la que estos insectos visitan las flores o inflorescencias es que se produce muchos granos de polen que sirven como fuente de alimento para diversos grupos (de Groot, 1953; Roulston y Cane, 2002), como en las especies estudiadas, ya que en algunos casos se ha mencionado que el polen es utilizado por algunas plantas como recompensa para sus polinizadores, ej. *Rosa rugosa* y *R. canina* producen grandes cantidades de polen, que emite olores característicos, que ayudan a la discriminación entre especies (Harborne, 1993).

Otro factor importante es el visual, incluso es considerado como el atrayente más importante (Endress, 2011). Las corolas grandes y llamativas son las primeras señales que anuncian a los polinizadores posibles recompensas, por ej. el género *Aristolochia* (Blanco, 2005), en *Piper scabrum*, *Peperomia questionis* y *Peperomia* sp. la ausencia de corola pudiera ser sustituida con el hecho que de las flores están agrupadas en inflorescencias, que son abundantes, blancas y erguidas, haciendo que contrasten con la vegetación verde. Por otra parte las flores despiden aromas reportados como atrayentes y constituyen otro componente en el sistema de atracción (Knudsen *et al.*, 2006). Pellmyr y Thien (1986) sugieren que en las angiospermas basales, los olores florales funcionaban como señales químicas para los insectos, anunciando sitios de alimentación y apareamiento, ocasionando constantes visitas florales.

En el clado ANA (Amborellales, Austrobaileyales y Nymphaeales) y Magnoliidae, los aromas florales están involucrados en la atracción de algunos insectos, para que se lleve a cabo la

polinización (Azuma *et al.*, 1999a; Thien, *et al.*, 2000; Bernhardt *et al.*, 2003; Thien *et al.*, 2009); sin embargo en los géneros *Piper* y *Peperomia*, hasta ahora no había reporte de aromas florales involucrados. Como se sabe, el aroma de las flores es una propiedad esencial para atraer a los polinizadores y a menudo se correlaciona con el polinizador que la visita. Debido a esto muchos visitantes florales en las diferentes especies estudiadas responden a mezclas específicas de los compuestos que son emitidos, como ocurre en *Medicago sativa* (Pecetti y Tava, 2000; Johnson *et al.*, 2000; Anexo 1). En las especies de *Piper* y *Peperomia* estudiadas la unidad de atracción posiblemente sea la inflorescencia, que se encuentra compuesta por flores pequeñas, puesto que contrasta con su entorno y se vuelve más atractiva para los insectos (Pecetti y Tava, 2000).

En las especies de *Piper* y *Peperomia* las características florales, los contenidos citoplasmáticos y los aromas florales identificados, representan sistemas altamente especializados, que nunca habían sido descritos para especies de estos géneros, es importante destacar que la combinación de ellos proporcionan evidencia de que, a pesar de la reducción de tamaño floral se han creado alternativas para asegurar la visita de insectos que posiblemente promuevan la polinización cruzada, aunque no hay que dejar de lado que la polinización por el viento también podría estar implicada en el sistema. Como mencionan de Figueiredo y Sazima (2000) las especies de *Piper* posiblemente tengan síndromes de polinización ambofílicos, es decir, que hay una combinación entre la polinización por insectos y el viento, dadas las características florales que presentan. Después de una sola visita a la flores con recompensa, el aroma es asociado y consiguen identificarlo hasta 90% de las veces (Galizia y Menzel, 2000, 2001). Lo anterior sugiere que pequeños cambios en los caracteres florales, pueden efectuar substancialmente el comportamiento del polinizador (Chittka y Raine, 2006).

En cuanto al sistema de recompensas, la presencia de elaióforos y las grandes cantidades de almidón y polisacáridos insolubles en los granos de polen, podrían ser una razón por la cual los visitantes acuden a las flores de Piperaceae; se ha sugerido que el polen es un pago por servicios a los polinizadores y debido a esto las plantas producen mucho más polen del necesario para la fecundación de los óvulos (Pellmyr y Thien, 1986). La presencia de elaióforos (aceites), es una forma de recompensa que ofrecen las flores para que sean visitadas, sobre todo en ausencia de néctar (Simpson y Neff, 1981; Vogel, 1998; Gottsberger, 2015). Se menciona que el aceite como recompensa evolucionó al menos 28 veces independientemente, comprendidos hasta el momento

en 11 familias y repartidos en 1800 especies aproximadamente, siendo las abejas el principal grupo colector de estas recompensas, dando como resultado el incremento en el éxito reproductivo en los grupos donde se encuentran (Renner y Schaefer, 2010).

La confirmación de tal hipótesis implicaría que las secreciones en las flores de Piperaceae pudieron haber surgido como respuesta a la necesidad de colonizar nuevos nichos y asimismo a la plasticidad que tienen estas plantas, puesto que en las familias Calceolariaceae, Iridiaceae, Krameriaceae, Malpighiaceae, Orchidaceae, Plantaginaceae, Solanaceae, Myrsinaceae, Cucurbitaceae, Scrophulariaceae y Stilbaceae, la presencia de estas secreciones es la recompensa para las abejas que las visitan (Renner y Schaefer, 2010a). La presencia de elaióforos es una evidencia más que apoya el origen polifilético de la producción de aceites en las angiospermas (Renner y Schaefer, 2010). Los estudios sobre la síntesis de lípidos como fuente de recompensa para polinizadores están dirigidos a especies de plantas relacionadas particularmente con algún polinizador, ya que son compuestos costosos de secretar, por lo cual es difícil evaluar las consecuencias evolutivas de su presencia (Simpson *et al.*, 1977; Simpson y Neff, 1981; Renner y Schaefer, 2010b).

## CONCLUSIONES

Las estructuras y características florales encontradas en este trabajo proporcionan información novedosa para la familia Piperaceae, puesto que no habían sido consideradas anteriormente en ningún trabajo morfológico floral en ella:

1. Se demostró que en *Piper scabrum*, *Piper amalago*, *Peperomia questionis* y *Peperomia sp.* las secreciones de los tricomas glandulares presentes en los ovarios de las flores y en el raquis de las inflorescencias, así como la gran cantidad de granos de polen producidos por la flor, son recompensas que ofrecen a sus polinizadores.
2. Se demostró que la presencia de abejas, sirfidos y escarabajos en las flores de las especies estudiadas transportan los granos de polen y contribuyen a que se facilite la polinización.
3. En este proyecto se aportó información novedosa acerca de los compuestos volátiles florales (terpenos principalmente), relacionados con la atracción de polinizadores, los cuales no habían sido reportados para la familia y constituyen un elemento más a su sistema de atracción.
4. El conjunto de los datos de morfología, anatomía, histoquímica, observación de polinizadores y la fitoquímica floral reportados en esta investigación, proporcionaron información acerca de las recompensas y atributos en inflorescencias de *Piper scabrum*, *Piper amalago*, *Peperomia questionis* y *Peperomia sp.*

## Literatura citada

- Arenas, A., y Farina, W. M. 2012. Learned olfactory cues affect pollen-foraging preferences in honeybees, *Apis mellifera*. *Animal Behaviour*, 83:4, 1023-1033.
- Armbruster W.S. 2012. Evolution and ecological implications of “specialized” pollinator rewards. En: Patiny S (ed). *Evolution of Plant-Pollinator Relationships*. The Systematics Association Special. *Cambridge University Press*. Reino Unido. Vol. 18. 44-67pp.
- Azuma, H., L.B. Thien, y S. Kawano. 1999a. Floral scents, leaf volatiles and thermogenic flowers in Magnoliaceae. *Plant Species Biology* 14: 121–127.
- Azuma, H., L.B. Thien, y S. Kawano. 1999b. Molecular Phylogeny of *Magnolia* (Magnoliaceae) Inferred from cpDNA Sequences and Evolutionary Divergence of the Floral Scents. *Journal of Plant Research* 112: 291–306.
- Baker H. 1977. Non-sugar chemical constituents of néctar. *Apidologie*. 8(4): 349-356.
- Baker H.G. y Baker I. 1983. Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type. En: Jones C.E. y Little J.R. (eds). *Handbook of Experimental Pollination Biology*. Van Nostrand Reinhold. USA 117-141pp.
- Barrett S.C.H, Harder L.D. y Cole W.W. 1994. Effects of flower number and position on self-fertilization in experimental population in experimental populations of *Eichhornia paniculata* (Pontederiaceae). *Functional Ecology* 8: 526-535.
- Banks, C. J. 1951. Syrphidae as pests of cucumbers. *Entomological Monographs Magazine* 86: 239–240.
- Barrios, Y., y N. Ramírez. 2008. Depresión por exogamia y biología reproductiva de *Nymphaea ampla* (Salisb.) DC.(Nymphaeaceae). *Acta Botanica Venezuelica* 31: 539–556.
- Benitez-Vieyra S., Medina A.M., Glinos E., Cocucci A. A. 2006 Pollinator-mediated selection on floral traits and size of floral display in *Cyclopogon elatus*, a sweat bee-pollinated orchid. *Functional Ecology* 20: 948–957.
- Bernardello G. 2007. A systematic survey of floral nectaries. En: Nicolson W.S., Nepi M. y Pacini E. Nectaries and Nectar. *Springer* 19-128pp.
- Bernhardt, P., T. Sage, P. Weston, H. Azuma, M. Lam, L.B. Thien, y J. Bruhl. 2003. The pollination of *Trimenia moorei* (Trimeniaceae): Floral volatiles, insect/wind pollen vectors and stigmatic self-incompatibility in a basal angiosperm. *Annals of Botany* 92: 445–458.
- Blanco, M. 2005. Un Híbrido espontáneo entre *Aristolochia gorgona* y *A. grandiflora* (Aristolochiaceae). *Lankesteriana* 5: 115–117.
- Bolin J.F., Maass E. y Musselman L.J. 2009. Pollination biology of *Hydnora africana* Thunb. (Hydnoraceae) in Namibia: brood-site mimicry with insecto imprisonment. *International Journal of Plant Sciences* 2: 157-163.
- Bozzola, J. y Russell, L. 1992. Electron Microscopy. Principles and Techniques for biologist. *Jones and Bartlett Publishers* Londres. 457 pp.
- Brunet J. 1996. Male reproductive success and variation in fruit and seed set in *Aquilegia caerulea* (Ranunculaceae). *Ecology* 77: 2458-2471.
- Buchmann L.S. 1987. The ecology of oil flowers and their bees. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 343-369.
- Burger, W.C. 1972. Evolutionary trends in the central american species of *Piper* (Piperaceae). *Brittonia* 24: 356–362.
- Carrió, E., Herreros, R., Bacchetta, G., y Güemes, J. 2008. Evidence of delayed selfing in *Fumana juniperina* (Cistaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 169:6, 761-767.
- Castro C.N. 2014. Biología reproductiva de *Peperomia campyloptropa* Hill. (Piperaceae). Tesis de Licenciatura (Biólogo). Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F. 62pp.

- Chittka, L. y N. Raine. 2006. Recognition of flowers by pollinators. *Current Opinion in Plant Biology* 9:428-435.
- Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. *Columbia University Press* 1262pp.
- Cunningham J., Moore C., Zalucki M. y Cribb B. 2006. Insect odour perception: recognition of odour components by flower foraging moths. *Proceedings of the Royal Society* 273: 2035-2040.
- Dafni, A. 1984. Mimicry and deception in pollination. *Annual Reviews of Ecology and Systematics* 15:259-278.
- Dobson H.E.M. 1994. Floral volatiles in insect biology. En: Bernays E.A. (ed). *Insect-plant interactions*. CRC. Londres 47-81pp.
- Dobson H. y Bergström. 2000. The ecology and evolution of pollen odors. *Plant Systematics and Evolution* 222: 63-87.
- Dobson, H. 2006. Relationship between floral fragrance composition and type pollinator. *Biology of floral scent* 147-198 pp.
- Duffy, K.J., y S.D. Johnson. 2011. Effects of pollen reward removal on fecundity in a self-incompatible hermaphrodite plant. *Plant biology* 13: 556–560.
- Dyer L., Richards J. y Dodson C. 2004. Isolation Synthesis, and Evolutionary Ecology of *Piper* Amides. pp117-139. En : Dyer A y Palmer A (eds). *Piper: A Model Genus for Studies of Phytochemistry, Ecology and Evolution*. *Kluwer Academic/Plenum Publishers*. New York. EUA 228 pp.
- Endress P.K. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press 511pp.
- Endress P.K. 2001. The flowers in Extant Basal Angiosperms and Inferences on Ancestral Flowers. *International Journal of Plant Sciences* 162: 1111–1140.
- Endress P.K. 2008. Perianth Biology in the Basal Grade of Extant Angiosperms. *International Journal of Plant Sciences* 169: 844–862.
- Endress P.K. 2010. The evolution of floral biology in basal angiosperms. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365: 411–421.
- Endress, P.K. 2011. Evolutionary diversification of the flowers in angiosperms. *American Journal of Botany* 98: 370–396.
- Faegri K. y van der Pijl L. 1979. The principles of pollination ecology. *Pergamon Press*. Oxford 206 pp.
- Fahn A. 1979. Secretory tissues in Plants. *Academic Press* 302 pp.
- Farina, W. M., Grüter, C., Acosta, L., y Mc Cabe, S. 2007. Honeybees learn floral odors while receiving nectar from foragers within the hive. *Naturwissenschaften*, 94(1), 55-60.
- Farré-Armengol, G., I. Filella, J. Llusia, y J. Peñuelas. 2013. Floral volatile organic compounds: Between attraction and deterrence of visitors under global change. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 15: 56–67.
- de Figueiredo, R.A., y M. Sazima. 2000. Pollination Biology of Piperaceae Species in Southeastern Brazil. *Annals of Botany* 85: 455–460.
- de Figueiredo, R.A., y M. Sazima. 2007. Phenology and Pollination Biology of Eight *Peperomia* Species (Piperaceae) in Semideciduous Forests in Southeastern Brazil. *Plant Biology* 9: 136–141.
- Frenzke, L., P. Goetghebeur, C. Neinhuis, M.-S. Samain y S. Wanke. 2016. Evolution of Epiphytism and Fruit Traits Act Unevenly on the Diversification of the Species-Rich Genus *Peperomia* (Piperaceae). *Frontiers in Plant Science* 7: 1145.
- Galizia, C. G., Küttner, A., Joerges, J., y Menzel, R. 2000. Odour representation in honeybee

- olfactory glomeruli shows slow temporal dynamics: an optical recording study using a voltage-sensitive dye. *Journal of Insect Physiology*, 46:6, 877-886.
- Galizia, C. G., y Menzel, R. 2001. The role of glomeruli in the neural representation of odours: results from optical recording studies. *Journal of Insect Physiology*, 47:2, 115-130
  - Golubov J. y Mandujado M.C. 2009. ¿Por qué los polinizadores visitan a las flores. *Casa del tiempo* 2: 39-41.
  - Goulson, D., Hanley, M.E., Darvill, B., Ellis, J.S. y Knight, M.E. 2005. Causes of rarity in bumblebees. *Biological Conservation* 122: 1–8.
  - de Groot, A.P. 1953. Protein and amino acid requirements of the honeybee (*Apis mellifica* L.). *Physiologia Comparata et Oecologia* 3: 197–285.
  - Gottsberger, G. 2015. Generalist and specialist pollination in basal angiosperms (ANITA grade, basal monocots, magnoliids, Chloranthaceae and Ceratophyllaceae): what we know now. *Plant Diversity and Evolution* 131: 263–362.
  - Grajales-Conesa J., Meléndez-Ramírez V. y Cruz-López L. 2011. Floral scents and their interaction with insecto pollinators. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 82: 1356-1367.
  - Hammer, K. A., C. F. Carson y T. V. Riley. 2003. Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Journal of Applied Microbiology* 95: 853-860
  - Hanley, M.E., M. Franco, S. Pichon, B. Darvill, y D. Goulson. 2008. Breeding system, pollinator choice and variation in pollen quality in British herbaceous plants. *Functional Ecology* 22: 592–598.
  - Harborne, J. B. 2014. *Introduction to ecological biochemistry*. Academic press.
  - Harder L.D. y Thomson J.D. 1989. Evolutionary options for maximizing pollen dispersal of animal- pollinated plants. *American Natural* 133: 323-344.
  - Hargreaves, A.L., Harder, L.D. y Johnson, S.D. 2009. Consumptive emasculation: the ecological and evolutionary consequences of pollen theft. *Biological Reviews* 84, 259–276.
  - Howell, A.D. y Alarcón, R. 2007. *Osmia* bees (Hymenoptera: Megachilidae) can detect nectar-rewarding flowers using olfactory cues. *Animal Behaviour*. 74, 199–205
  - Imery-Buiza J. y Cequea-Ruiz H. 2008. Autoincompatibilidad y protandria en poblaciones naturalizadas de *Aloe vera* de la península de Araya, Venezuela. *Polibotánica*. 26:113-125.
  - Jaramillo, M.A. y P.S. Manos. 2001. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). *American journal of botany* 88: 706–16
  - Jaramillo A., Manos S.P. y Zimmer A.E. 2004. Phylogenetic relationships of the perianthless Piperales: reconstructing the evolution of floral development. *International Journal of Plant Sciences* 165(3):403- 416.
  - Jaramillo A. y Callejas R. 2004. Current Perspectives on the Classification and Phylogenetics of the genus *Piper* L. pp 179-198. En: Dyer A y Palmer A (eds). *Piper: A Model Genus for Studies of Phytochemistry, Ecology and Evolution*. Klumer Academic/Plenum Publishers. New York. EUA 228 pp.
  - Johnson, S.D. y Hobbhahn, N., 2010. Generalized pollination, floral scent chemistry, and a possible case of hybridization in the African orchid *Disa fragrans*. *South African Journal of Botany*. 76, 739–748.
  - Judd S.W., Campbell S.C., Kellogg A.E., Stevens F.P. y Donoghue J.M. 2002. *Plant Systematics: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts. U.S.A.
  - Knudsen, J.T., R. Eriksson, J. Gershenzon y B. Stahl. 2006. Diversity and Distribution of Floral Scent. *The Botanical Review* 72: 1–120.
  - Kunze, J. y Gumbert, A. 2001. The combined effect of color and odor on flower choice behavior of bumble bees in flower mimicry systems. *Behavioral Ecology*, 12(4), 447-456.
  - Lei, L.-G., y H.-X. Liang. 1998. Floral development of dioecious species and trends of floral

- evolution in *Piper sensu lato*. *Botanical Journal of the Linnean Society* 127: 225–237
- Liu F., Chen J., Chai J., Zhang X., Bai X., He D. y Roubik D.W. 2007. Adaptive functions of defensive plant phenolics and a non-linear bee response to nectar components. *Functional Ecology* 21: 96–100.
  - Li, P., Luo, Y., Bernhardt, P., Kou, Y. y Perner, H., 2008. Pollination of *Cypripedium plectrochilum* (Orchidaceae) by *Lasioglossum* spp, (Halictidae): the roles of generalist attractants versus restrictive floral architecture. *Plant Biology*. 10, 220–230.
  - López C.L., Márquez J. y Munguía G. 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. *Las prensas de Ciencias*. Facultad de Ciencias. UNAM. 178 pp.
  - Lorence, D. H. 1985. A monograph of the Monimiaceae (Laurales) in the Malagasy region (southwest Indian Ocean). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 72: 1–165
  - Makino T.T., Ohashi K. y Sakai S. 2007. How do floral display size and the density of surrounding flowers influence the likelihood of bumble bee revisitation to a plant? *Functional Ecology* 21: 87–95.
  - Marquis, R.J. 1988: Phenological variation in the neotropical understory shrub *Piper arieianum*: causes and consequences. *Ecology* 69: 1552–1565.
  - Martin F.W. y Gregory L.E. 1962. Mode of pollination and factors affecting fruit set in *Piper nigrum* L. In Puerto Rico. *Crop Science* 2: 295-299.
  - Martínez, M., M. Engleman, y S. Koch. 2006. Contribución al conocimiento de *Peperomia* (Piperaceae): fruto y semilla. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 78: 83–94.
  - Marínez-Peralta, C. y Mandujano, M. d. C. 2011. Reproductive ecology of the endangered living rock cactus, *Ariocarpus fissuratus* (Cactaceae). *The Journal of the Torrey Botanical Society*, 138:2, 145-155.
  - Mesa L. y García L.J. 1997. Vegetación y mesoclima de Guerrero. En: Diego PN y Fonseca RM (Eds.). Estudios Florísticos en Guerrero. Núm. especial 1. *Prensas de la Facultad de Ciencias*. UNAM. México. 53pp.
  - Metcalf R.L. 1987. Plant volatile as insect attractants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 45: 251-301.
  - Menzel R., 1985. Learning in honey bees in an ecological and behavioral context. *Fortschritte Der Zoologie*. 31, 55–74.
  - de Moraes C.M., M. C. Mescheer y J.H. Tumlinson. 2001. Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel nonspecific females. *Nature*. 410: 577-580.
  - Munguía-Soto. E.O. 2016. Facilitación en la polinización por abejas generalistas y especialistas de Cactáceas del Semidesierto de Querétaro. Tesis de Maestría (Maestro en Biología). Universidad Autónoma Metropolitana. México, Ciudad de México. 88pp.
  - Navarro L., Rosas C. y Ayensa G. 2000. Recompensas florales y éxito reproductivo. *Portugaliae Acta Biológica* 19(1): 121-126.
  - Nicolson S. y Thornburg R. 2007. Nectar chemistry. En: Nicolson S, Nepi M y Pacini E (eds). Nectaries and néctar. *Springer*. 129-166.
  - Nepi M., von Aderkas P. y Pacini E. 2012. Sugary Exudates in Plant Pollination. En: Vivanco J y Baluska F (eds). Secretions and Exudates in Biological Systems. *Springer-Verlag*. Berlin, Alemania. 284pp.
  - Nyffeler R. 2004. Piperaceae. en Eggli U. (ed). Dicotyledons. *Springer-Verlag*. Alemania. pp 545.
  - De Oliveira, J.H.G., L.A. De Souza, y M.D.C. Iwazaki. 2008. Estruturas de reproducao de *Peperomia parnassifolia* Miq. (Piperaceae). *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 30(1): 1–7.
  - Pacini E., Nepi M. y Vesprini J. 2003. Nectar biodiversity: a short review. *Plant Systematics*

*and Evolution*. 238: 7-21.

- Pacini E., Viegi L. y Franchi G. 2008. Types, evolution and significance of plant-animal interactions. *Rendicondi Linnei*. 19:75-101.
- Pecetti, L. y A. Tava. 2000. Effect of Flower Color and Sampling Time on Volatile Emanation in Alfalfa Flowers. *Crop Science* 40: 126.
- Pellmyr, O. y L.B. Thien. 1986. Insect Reproduction and Floral Fragrances : Keys to the Evolution of the Angiosperms?. *Taxon* 35: 76–85
- Pellmyr O. 2002. Pollination by animals. En: Herrera C y Pellmyr O (eds). Plant-Animal interaction an evolutionary approach. *Blakwell*. 157-184.
- Pichersky, E. y J. Gershenzon. 2002. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defence. *Current opinión in plant biology*. 5: 237-243.
- Proctor M., Yeo P. y Lack A. 1996. The natural history of pollination. *Timber Press*. 479pp.
- Raguso R.A. 2001. Floral scent, olfaction and scent driven foraging behavior. Pp 83-105 en Chittka y Thomson(eds). Cognitive ecology of pollination; Animal behavior and floral evolution. *Cambridge University Press*. Cambridge.
- Raguso, R.A. 2008. Wake up and smell the roses: the ecology and evolution of floral scent. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 39, 549-569.
- Ramírez, N. 1995. Producción y costo de frutos y semillas entre modos. *Revista de Biología Tropical*. 43:1-3, 15-159.
- Remizowa, M., J. Rudall, P, y D. Sokoloff. 2005. Evolutionary Transitions among Flowers of Perianthless Piperales : Inferences from Inflorescence and Flower Development in the Anomalous Species *Peperomia fraseri* (Piperaceae). *International Journal of Plant Sciences* 166: 925–943.
- Renner, S.S., y H. Schaefer. 2010. The evolution and loss of oil-offering flowers: new insights from dated phylogenies for angiosperms and bees. *Philosophical transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 365:1539: 423–435.
- Rzedowski J. 1978. Vegetación de México. Ed. *Limusa*. México D.F.
- Roulston H.T. y Cane H.J. 2002. The effect of pollen protein concentration on body size in the sweat bee *Lasioglossum zephyrum* (Hymenoptera:Apiformes). *Evolutionary Ecology* 16: 49-65.
- Runions J.C. y Gerber M.A. 2000. Evolution of the self-pollinating flower in *Clarkia xantina* (Onagraceae). I. Size and development of floral organs. *American Journal Botany* 87: 1439-1451.
- Sakai S. 2002. A review of brood-site pollination mutualism: plants providing breeding sites for their pollinators. *Journal of Plant Research* 115:161-168.
- Samian M.S. 2008. Tackling Pandorás Box. Order out of chaos in the giant genes *Peperomia* (Piperaceae). Tesis Doctoral. *Ghent University*. Bélgica.
- Samain, M.S., L. Vanderschaeve, P. Chaerle, P. Goetghebeur, C. Neinhuis y S. Wanke. 2009. Is morphology telling the truth about the evolution of the species rich genus *Peperomia* (Piperaceae)? *Plant Systematics and Evolution* 278: 1–21.
- Schiestl, F.P., Glaser, F., 2012. Specific ant-pollination in an alpine orchid and the role of floral scent in attracting pollinating ants. *Alpine Botany*. 122, 1–9.
- Schiestl, F. P. y Johnson, S. D. 2013. Pollinator-mediated evolution of floral signals. *Trends in Ecology y Evolution*, 28:5, 307-315.
- Semple, K.S. 1974. Pollination in Piperaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 61: 868–871.
- Seymour R., Maass E. y Bolin J. 2009. Floral thermogenesis of three species of *Hydnora*

- (Hydnoraceae) in Africa. *Annals of Botany* 104: 823-832.
- Simpson, B.B., J.L. Neff y D. Seigler. 1977. Krameria, free fatty acids and oil-collecting bees. *Nature* 267: 150–151.
  - Simpson, B.B. y J.L. Neff. 1981. Floral reward : Alternatives to pollen and nectar. *Annals of the Missouri botanical Garden* 69: 301–322
  - Singer B.R. 2009. Floral morphology and pollination in Orchidaceae: Charles Darwin's Second Book. *Acta Biológica Colombiana*. 337-350.
  - Silberbauer-Gottsberger, I., Vanin, S. A., y Gottsberger, G. 2013. Interactions of the cerrado palms butia paraguayensis and syagrus petraea with parasitic and pollinating insects. *Sociobiology*, 60:3, 306-316.
  - Sokoloff, D., Rudall, P. J. y Remizowa, M. 2006. Flower-like terminal structures in racemose inflorescences: a tool in morphogenetic and evolutionary research. *Journal of Experimental Botany*, 57(13), 3517-3530.
  - Taylor D.W. y Hickey L.J. 1990. An aptian plant with attached leaves and flowers: Implications for angiosperm origin. *Science* 247: 702-704.
  - Tebb M.C. 1989. Revision of Piper (Piperaceae) in the New World. 1. Review of characters and taxonomy of Piper section *Macrostachys*. *Bulletin of the British Museum of Natural History. Botany* 19: 117-158.
  - Thien, L.B., E.G. Ellgaard, M.S. Devall, S.E. Ellgaard y P.F. Ramp. 1994. Population Structure and Reproductive Biology of *Saururus cernuus* L. (Saururaceae). *Plant Species Biology* 9: 47–55.
  - Thien L.B. y Azuma, H. 2000. New Perspectives in the pollination biology of basal angiosperms. *International Journal of Plant Sciences* 161: S225–S235.
  - Thien L.B., T. L. Sage, T. Jaffré, P. Bernhardt, V. Pontieri, P. H. Weston, D. Malloch, H. Azuma, S. W. Graham, M. A. McPherson, H. S. Rai, R. F. Sage y J.-L. Dupre. 2003. The population structure and floral biology of *Amborella trichopoda* (Amborellaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 90: 466- 490.
  - Thien, L.B., P. Bernhardt, M.S. Devall, Z.D. Chen, Y.B. Luo, J.H. Fan, L.C. Yuan y J.H. Williams. 2009. Pollination biology of basal angiosperms (ANITA grade). *American Journal of Botany* 96: 166–182.
  - Tiffney B.H. 1984. Seed size, dispersal syndromes, and the rise of the angiosperms: evidence and hypothesis. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 71: 551-576.
  - Torres S.D. 2013. Estructura de los nectarios florales en miembros de la Tribu Pachycereeae (Cactaceae, Juss.). Tesis de Licenciatura (Biólogo). Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F. 58pp.
  - Tucker, C. 1980. Inflorescence and Flower Development in the Piperaceae. I. *Peperomia*. *American Journal of Botany* 67: 686–702.
  - Tucker, S.C. 1982. Inflorescence and Flower Development in the Piperaceae. II. Inflorescence Development of *Piper*. *American Journal of Botany* 69: 743.
  - Tucker C.S., Douglas W.A. y Han-Xing L. 1993. Utility of ontogenetic and conventional characters in determining phylogenetic relationships of Saururaceae and Piperaceae (Piperales). *Systematic Botany* 18:614-641
  - Valentin-Silva, A., V.P. de M. Coelho, M.C. Ventrella, y M.F. Vieira. 2015. Timing of pollen release and stigma receptivity period of *Piper vicosanum*: New insights into sexual reproduction of the genus. *American Journal of Botany* 102: 626.
  - Vogel S. 1974 Ölblumen und ölsammelnde Bienen. *Trop. u. Subtrop.* 7, 1–267.
  - Vogel, S. 1983. Ecophysiology of zoophilic pollination. In *Physiological plant ecology III* (pp. 559-624). Springer Berlin Heidelberg.

- Vogel S. 1990. The role of scent glands in pollination: on the structure and function of osmophores. *Amerind Publishing Co.* Nueva Deli.
- Vogel, S. 1998. Remarkable nectaries: structure, ecology, organophyletic perspectives. II. Nectarios. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 193: 1–29.
- Wisniewski, C. 2014. Pollination Biology of four species of *Piper* in the Rio Abajo Forest Preserve, Puerto Rico. Missouri. Tesis de Maestría (Master of Natural Science). Universidad del Estado de Missouri. EUA.
- Wright, G.A. y F.P. Schiestl. 2009. The evolution of floral scent: the influence of olfactory learning by insect pollinators on the honest signaling of floral rewards. *Functional Ecology* 23: 841–851.
- Zimmerman M. y Pyke H.G. 1988. Experimental manipulation of *Polemonium foliosissimum*-effects on subsequent néctar production, seed production, and growth. *Journal of Ecology*. 76: 777-789.

**Anexo 1. Relaciones entre la composición de las fragancias florales con el tipo de polinizador. (Tomado y sintetizado de Dobson, 2006).**

Orden de insectos	Familias o afines de insectos	Grupos de compuestos volátiles florales	Géneros de plantas
<b>Coleoptera</b>	Scarabaeidae	Metoxilados	<i>Nymphaea</i> (Nymphaeaceae)
	Scarabaeidae	Bencenoides	<i>Montrichardia</i> (Araceae)
	Scarabaeidae	Jasmonato	<i>Cyclanthus</i> (Cyclanthaceae)
	Scarabaeidae	Terpenoides oxigenados	<i>Magnolia</i> (Magnoliaceae)
	Nitidulidae, Scruptiidae, Curculionidae, Staphylinidae	Ésteres de ácidos grasos Ésteres benzóicos, terpénicos o naftaleno.	Annonaceae, Winteraceae
	Nitidulidae, Scruptiidae, Curculionidae, Staphylinidae	Bencenoides, terpénicos o derivados de ácidos metil-ésteres	Magnoliaceae
	Tenebrionidae,	Monoterpenos	<i>Macrozamia</i> (Cycadaceae)
	Curculionidae	Monoterpenos (Linalool, hidrocarburos alifáticos, mezcla de terpenos (linalool) o benzenoides (metil salicilato) )	<i>Zamia</i> y <i>Encephalartos</i>
	Nitidulidae y Chrysimelidae	Hidrocarburos alifáticos	<i>Ceroxylon</i> , <i>Mauritia</i> , <i>Geonoma</i>
	Nitidulidae Curculionidae	Derivados de ácidos grasos, hidrocarburos alifáticos o 3-pentanone	<i>Wettinia</i> (Arecaceae)
	Malachidae, Bruchidae, Scarabaeidae, Dasytidae	Bencenoides (benzaldehído y ésteres) Compuestos nitrogenados (benzaneamines, o-nitroanisol, nicotinaldehído)	<i>Hypecoum</i> (Papaveraceae)
	Bruchidae	Otros bencenoides (metil salicilato, metil benzoato, benzaldehído, eugenol), alcoholes derivados de ácidos grasos y ésteres, terpenoides (e.g., geraniol, citronelol), y algunos volátiles nitrogenados (indol)	<i>Arum creticum</i> (Araceae)
	Melolonthinae	Alquenos derivados de ácidos grasos (heptadeceno) acompañado por linalool y otros oxidos benzenoides y cis-jasmonato	<i>Cyathostegia methawsii</i> (Leguminosae)
<b>Diptera</b>		Compuestos de varios ácidos o que contengan nitrógeno	
		Ácidos metilbutírico Etanol Ocimeno	<i>Gypsophila paniculata</i> (Caryophyllaceae)
	Moscas no identificadas	Alcoholes y ésteres dervados de ácidos grasos (3-metilbutanoico, butil acetato	<i>Theophrastia deherainia</i> (Theophrastaceae)
		Mezcla de Alcoholes derivados de ácidos grasos, aldehídos y cetonas, benzaldehído, dimetilnonatrieno, bencenoides metoxilados y volátiles nitogenado	<i>Crataegus</i> (Rosaceae)
	Varias moscas	Cis-hexenol acompañado por varios terpenoides.	<i>Silene rupestris</i> (Caryophyllaceae)

**Continuación. Relaciones entre la composición de las fragancias florales con el tipo de polinizador. (Tomado y sintetizado de Dobson, 2006).**

	<b>Moscas de la familia Syrphidae</b>	<b>Monoterpenos como linalool y derivados con éteres benzenoides</b>	<b>Asterogyne (Arecaceae)</b>
	Ceratopogonidae, Drosophilidae, Syrphidae	Terpenoides, linalool	<i>Prestoea schultzeana</i> (Arecaceae)
	Ceratopogonidae	Derivados de ácidos grasos, especialmente cadenas largas de alquenos y alcanos. Terpenos	<i>Theobroma cacao</i> (Sterculiaceae/Malvaceae) <i>T. mammosum</i> y <i>T. simiarum</i>
	Tephritidae	Aceites volátiles en la superficie de los pétalos y sépalos. Metil-eugenol, Alcohol trans-3,4-dimetoxicinamoil	<i>Bulbophyllum</i> y <i>Dendrobium</i> (Orchidaceae) <i>Fagraeta berteriana</i> (Loganiaceae) <i>Hydnora africana</i> (Hydnoraceae)
		Olores fétidos, producidos por una compleja mezcla floral con más de 15 aromas florales, en los que se encuentran disulfatos, ácidos alifáticos, aldehídos, alcanfor, acetona de geranil/geranil cetona, benzaldehído, <i>p</i> -cresol	
		Mezcla compleja con más de 100 compuestos, entre los que destacan los compuestos dimetil disulfuro	<i>Aristolochia gigantea</i> (Aristolochiaceae)
<b>Hymenoptera</b>	Abejas	$\alpha$ y $\beta$ -pineno	<i>Cimicifuga</i> (Ranunculaceae) <i>Polemonium</i> (Polemoniaceae) <i>Bartsia</i> (Scrophulariaceae)
		Trans- $\beta$ -ocimeno	<i>Vicia</i> , <i>Lathyrus</i> , <i>Medicago</i> (Fabaceae), <i>Laurus</i> (Lauraceae), <i>Gustavia</i> , <i>Lecythis</i> (Lecythidaceae), <i>Passiflora</i> (Passifloraceae) y <i>Clarkia</i> (Onagraceae).
		Linalool	Arecaceae
		$\beta$ felandreno	<i>Solanum</i> (Solanaceae)
		Limoneno	<i>Mirabilis</i> (Nyctaginaceae) <i>Primula elatior</i> (Primulaceae)
		Cariofileno	<i>Clavija</i> (Theophrastaceae)
		Trans- $\alpha$ -farneseno	<i>Lecythis</i>
		$\alpha$ -copaeno	<i>Grias</i>
		Dehidrogeosmina	Cactaceae
		Limoneno	<i>Silene</i> (Caryophyllaceae)
		Alcohol bencil, 1,4-dimetoxibenceno, trimetoxibenceno	<i>Cucurbita</i> (Cucurbitaceae)
		Acetofenona, 1-feniletanol y metil cinamato	<i>Trifolium pratense</i> (Fabaceae)
		Metil benzoato	<i>Antirrhinum</i> (Scrophulariaceae)
		Combinación entre benzenoides y terpenos	
		2-feniletanol, éter dimetilíco de orcinal/orcinal dimetiéter, eugenol, geraniol, nerol, citronelol, ésteres y aldehídos	<i>Rosa</i> (Rosaceae)

**Continuación. Relaciones entre la composición de las fragancias florales con el tipo de polinizador. (Tomado y sintetizado de Dobson, 2006).**

<b>Benzaldehído, alcohol bencilico, 2-feniletanol, <math>\alpha</math> pineno, limoneno, trans,<math>\beta</math>-ocimeno, germacreno D, <math>\alpha</math>-ylangeno</b>	<b><i>Fragaria</i></b>
$\alpha$ -farneseno, hidrocarburos alifáticos	<i>Actinidia</i> (Actinidiaceae)
Ésteres derivados de ácidos grasos, limoneno y $\beta$ -ionona.	<i>Narcissus quatrecasasii</i> (Amaryllidaceae)
Ácidos alifáticos, hidrocarburos y alcoholes	<i>Clusia</i> (Clusiaceae)
Alcanos y alquenos alifáticos	<i>Papaver rhoeas</i> (Papaveraceae)