



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Estructura de los nectarios florales en miembros de la
Tribu Pachycereeae (Cactaceae Juss.)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

DAVID EDUARDO TORRES SÁNCHEZ



**DIRECTOR DE TESIS:
DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ
GUZMÁN
2013**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

1. Datos del alumno
Torres
Sánchez
David Eduardo
044 55 48 50 84 40
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
306185711
2. Datos del tutor
Dra.
Guadalupe Judith
Márquez
Guzmán
3. Datos del sinodal 1.
Dra.
María del Carmen
Mandujano
Sánchez
4. Datos del sinodal 2.
Dr.
Ángel Salvador
Arias
Montes
5. Datos del sinodal 3.
Dra.
Sonia
Vázquez
Santana
6. Datos del sinodal 4.
M. en C.
Mariana
Rojas
Aréchiga
7. Datos del trabajo escrito
Estructura de los nectarios florales en miembros de la Tribu Pachycereeae
(Cactaceae Juss.)
64 p.
2013

A esa gran mujer que con esfuerzo y mucho amor nos sacó adelante, ofreciéndome siempre un hombro en el cual recargarme siendo siempre el gran pilar de mi vida, a ti madre.

A ese hombre que se ha convertido en un gran amigo y gran maestro, a ti padre.

A mis abuelitos Virginia y Mario, que me han enseñado gran parte de cómo un buen hombre debe ser, dándome más del amor que un nieto pueda esperar junto con mis abuelitos Carmen y Jacinto.

A mis hermanos Karla y Carlos, pilar fundamental de lo que ha sido mi vida y que con esto se motivan a ser siempre mejores seres humanos.

A mis tíos, Irma, Carmela, María, Jorge, Carmen, Jacinto y *Lolis*, por darme todo el amor y apoyo, como si fuera uno más de sus hijos.

A esa gran familia que uno adopta y que te acompaña, te apoya y te levanta, a mis amigos: Ingrid, Gaby, Marcela, Cony, Alberto, Nadia, Pamela, Nash, Armando y Andrea.

Por último a todas esas personas que me han extendido la mano, que han caminado junto a mí o que me han motivado a ser una mejor persona y no sólo eso, también un buen profesionalista, a todos ustedes, gracias.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por alojarme en su aulas desde la Escuela Nacional Preparatoria No. 6, hasta la Facultad de Ciencias, enseñándome a ser un buen universitario y un mejor ser humano.

A la Dra. Judith Márquez Guzmán por el gran apoyo que me ha brindado, no solamente en lo académico, incluso en lo personal y por compartirme un poco de esa sabiduría que solo las plantas pueden entregar, le estaré eternamente agradecido.

A la M. en C. Mónica Karina Pérez Pacheco por su gran ayuda, increíble paciencia e invaluable amistad que me brindo en la realización de este trabajo. Pilar fundamental en el desarrollo técnico de esta tesis.

Al Dr. Salvador Arias Montes, a la Dra. María del Carmen Mandujano, Dra. Sonia Vázquez Santana y la M. en C. Mariana Rojas, por sus valiosas correcciones que enriquecieron este trabajo, inspirando aún más mi amor por las cactáceas.

Al Servicio de Microscopía Electrónica de Barrido del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, en especial a la Biol. Yolanda Hornelas Orozco, por la ayuda en el procesamiento y observación del material en el Microscopio Electrónico de Barrido.

Al Laboratorio de Microcine de la Facultad de Ciencias, en especial a la M. en F. P. Ana Isabel Bieler Antolín por su ayuda en la toma de fotografías de los cortes histológicos.

Al M. en C. Ricardo Wong y el Biol. Manuel Ochoa por su apoyo en el trabajo de campo, ayudando en la colecta de flores y de néctar, además al Sr. Maurino Reyes por guiarnos entre los *tetechos* y los *viejitos*, haciendo más amenas las noches de colecta.

A todos los integrantes del Laboratorio de Desarrollo en Plantas, desde profesores hasta alumnos, que de una u otra manera, me han aconsejado y guiado enriqueciendo este trabajo, así como mi vida profesional y personal. Gracias.

**En memoria de Mario Sánchez Alba, gran ser un humano,
excelente amigo y como un padre para mí.**

Que el equipaje no lastre tus alas.

J. Sabina.

Índice

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Antecedentes.....	3
Nectarios.....	3
Clasificación de nectarios.....	5
Néctar.....	6
Origen del néctar.....	7
Nectarios florales.....	8
Función de los nectarios florales en plantas.....	9
Familia Cactaceae.....	10
Tribu Pachycereeae.....	11
Nectarios florales en cactáceas.....	12
Nectarios y néctar en cactáceas columnares.....	13
Hibridación en cactáceas columnares.....	14
Objetivos.....	16
Metodología.....	17
Área de estudio.....	17
Unidades de estudio.....	18
<i>Neobuxbaumia tetetzo</i>	
<i>Cephalocereus columna-trajani</i>	
<i>Neobuxbaumia tetetzo x Cephalocereus columna-trajani</i>	
Trabajo de campo.....	19
Microtécnica.....	20
Fijación	
Inclusión	
Tinción	
Histoquímicas	
Microscopia Electrónica de Barrido.....	22
Procesamiento y análisis del néctar.....	23
Resultados.....	24
Discusión.....	39
Conclusiones.....	48
Bibliografía.....	49

Resumen

México posee la mayor riqueza de especies pertenecientes a la tribu Pachycereeae (Cactoideae), siendo la mayoría endémicas del país. El Valle de Tehuacán-Cuicatlán es reconocido como centro de diversificación de esta tribu.

Los nectarios florales son los órganos encargados de producir y secretar néctar, siendo el néctar el atrayente para los polinizadores, promoviendo la fecundación cruzada. El objetivo de esta investigación fue describir la morfología y anatomía de los nectarios, las estructuras de secreción del néctar, así como describir la calidad y volumen del néctar producido en *Neobuxbaumia tetetzo*, *Cephalocereus columna-trajani* y el híbrido entre ellos, esto con la finalidad de hacer comparaciones sobre los procesos reproductivos en el híbrido respecto a las especies parentales.

Se colectaron flores en antesis de *N. tetetzo*, *C. columna-trajani* y del híbrido. Parte del material se incluyó en paraplast y en LR-White. Además se realizaron observaciones al microscopio electrónico de barrido. Se midió el volumen de néctar, los grados Brix y se determinó la calidad energética.

Los nectarios en las dos especies parentales y el híbrido son de tipo hipantial. El néctar se secreta por medio de nectarostomas y están presentes en los tres taxa. El arreglo de los nectarostomas en *N. tetetzo* y el híbrido es en pares y solitarios, en cambio en *C. columna-trajani* el arreglo es solitario. El nectario de las especies parentales está constituido por dos tipos celulares secretores, conformados por entre 9 y 10 estratos en conjunto. Sin embargo, la anatomía del nectario es distinta en el híbrido, observándose que está constituido por solo un tipo celular secretor formado por más de 15 estratos celulares.

Los resultados de las mediciones volumétricas de néctar fueron en *N. tetetzo* 259.7 μl , *C. columna-trajani* 165.3 μl y el híbrido 229.2 μl . El análisis obtenido de la calidad energética del néctar es de 830.63, 510.05 y 899.52 Joules para los parentales y el híbrido.

Anatómicamente los nectarios del híbrido son más similares a los encontrados en *N. tetetzo* que en *C. columna-trajani*. Con base en los resultados anatómicos y de calidad del néctar, el híbrido podría presentar mayor vigor que sus parentales, ayudando a su establecimiento y éxito en la región donde habitan.

Introducción

La interacción planta-polinizador está determinada por las características florales, como puede ser el color, el olor y el tipo de recompensa como el polen o el néctar. Los nectarios son tejidos glandulares que secretan fluidos ricos en azúcares a diferentes concentraciones, además de proteínas, aminoácidos, ácidos orgánicos, iones minerales, fosfatos y vitaminas, entre otros compuestos (Fahn, 1979, 1988, 1998). Este fluido es conocido como néctar.

Debido a que esta secreción representa un recurso para muchos animales y que tiene funciones ecológicas importantes, sus atributos pueden afectar la estructura de comunidades vegetales y animales (Mitchell, 2004).

La clasificación de los nectarios ha estado basada principalmente por la posición en la que se encuentran en la planta, diferenciando entre nectarios florales y extraflorales de manera muy general, aunque otros autores le otorgan más peso a su función o a su estructura.

Se les llama nectarios florales, a aquéllos que se encuentren al interior de la flor, mientras que aquéllos que se encuentren fuera de la flor se les llama nectarios extraflorales (Caspary, 1848).

Los nectarios florales, producen néctar que por lo general está relacionado con la polinización, en cambio los nectarios extraflorales y el néctar que producen, comúnmente se encuentra asociado a otro de tipo de interacciones mutualistas con insectos, como la protección de herbívoros (Díaz-Castelazo, 2005; Villamil, 2013).

En el caso de la familia Cactaceae, que caracteriza el paisaje de las zonas áridas y semiáridas de México (Bravo-Hollis, 1978), se presentan los dos tipos de nectarios anteriormente mencionados (Buxbaum, 1953, Montero, 2004). Aunque su estudio dentro de la familia no ha sido tan profundo, ya que generalmente son trabajos meramente morfológicos, se han realizado algunos trabajos que ahondan más dentro de la estructura y ecología de los nectarios de estas especies vegetales.

Los nectarios florales en cactáceas se han estudiado por su estructura y forma de secreción del néctar, con relación a los procesos de polinización. También ha llamado la atención la composición y calidad del néctar de los nectarios florales, debido a que son específicas al tipo de polinizador, siendo que en cactáceas existe un amplio rango de polinizadores, como insectos, aves y murciélagos.

Por lo tanto en la presente investigación se estudia la localización, estructura y micromorfología de los nectarios florales en *Neobuxbaumia tetetzo* y *Cephalocereus columna-trajani*, así como en un híbrido producto de la cruce de estas dos especies, pertenecientes a la subtribu Pachycereeae, analizados en conjunto con algunos parámetros del néctar que producen.

Antecedentes

Nectarios

Se define al nectario como una estructura secretora que libera un fluido rico en azúcares denominado néctar e implicado en la interacción planta-animal (Evert, 2006; Pacini y Nicolson, 2007). Aunque Schmid (1988) agrega otras características como que sea una glándula multicelular, que esté más o menos localizada ya sea en órganos vegetativos o reproductivos, y que la función puede ser para la polinización, de protección o de señuelo en el caso de las plantas carnívoras.

El término «*Nectarium*» fue reportado por primera vez en *Systema Naturae* de Linneo (1735), utilizándolo como una de las características de la corola. Posteriormente en *Philosophia Botanica* (1751) se explican más detalles sobre la posición de esta estructura, la cual se puede encontrar no solo en la corola, sino también en los estambres, el pistilo o el receptáculo.

En términos generales los nectarios están compuestos por una epidermis, con o sin tricomas o estomas, en donde el néctar es liberado hacia el exterior, además de un parénquima especializado que produce y almacena el néctar y un tejido vascular que proporciona agua y otros nutrientes (Fahn, 1979a, b; Paccini *et al.*, 2003; Paccini y Nicolson, 2007)

Las células epidérmicas pueden formar una epidermis lisa y continua, pueden estar organizadas en empalizada (Evert, 2006), u organizadas de manera anticlinal con una forma polihédrica, presentan una vacuola generalmente más grande que en las células del parénquima glandular (Fahn, 1979b; Nepi, 2007).

Las estructuras secretoras por las cuales se puede llevar a cabo la liberación del néctar generalmente son tricomas glandulares como en las Malvales (Shanmukha y Ramayya, 1998), en la Bignoniacea *Kigelia pinnata* (Rudramuiyappa y Manure, 1998) o por estomas modificados como en la mayoría de las angiospermas (Nepi, 2007).

En cuanto a los tricomas glandulares, éstos se dividen en unicelulares como en *Lonicera japónica* (Caprifoliaceae), multicelulares lineares en el caso de *Abutilon* (Malvaceae) y multicelulares capitados como en *Vicia faba* (Fabaceae; Fahn, 1979a).

La secreción por estomas ocurre en *Colchicum* (Colchicaceae), *Citrus* (Rutaceae), *Hedera helix* (Araliaceae) entre otras (Fahn, 1979a; Vezza *et al.*, 2006). Estos estomas se encuentran modificados, debido a que en su mayoría han perdido la capacidad de cerrar el poro estomático, son también llamados nectartodos (Schmid, 1988) o nectarostomas (Nepi, 2007).

Otra forma en la que se ha reportado la secreción es por medio de espolones, que son crecimientos del perianto, en forma de sacos delgados que producen, almacenan y liberan el néctar (Judd, 2002). Esta forma de secreción la presenta *Platanthera chlorantha* así como otras orquídeas (Stpiczynska *et al.*, 2005).

La cutícula puede ser delgada, gruesa o ausente, dependiendo de la posición del nectario en la planta (Fahn, 1998a, b), puede también ser permeable para la secreción del néctar o tener microcanales (Nepi, 2007). Se ha reportado que también la secreción se da por el rompimiento de la cutícula debido a la presión misma del néctar, como en *Helleborus foetidus* (Ranunculaceae) y en la fabácea *Glycine max* (Vesprini, Nepi y Pacini 1999; Horner *et al.*, 2003).

Las células secretoras activas son pequeñas, tienen un citoplasma denso rico en ribosomas, están altamente vacuoladas, presentan taninos en algunos casos, con abundantes plasmodesmos, un núcleo grande, numerosas mitocondrias además de un aparato de Golgi y retículo endoplásmico bien desarrollado y representativo (Fahn, 1979a, b, 1988 y 1998; Evert, 2006). Pueden presentar cloroplastos o amiloplastos, o los dos (Bernardello, 2007), aunque lo más común es que no presenten cloroplastos como en *Passiflora* sp. (Durkee, 1981). El tejido secretor del nectario puede presentar drusas o rafidios de oxalato de calcio, como en *Lythrum salicaria* (Lythraceae) y *Hedera helix* (Vezza *et al.*, 2006; Caswell y Davis, 2011).

Nepi (2007) propone el nombre de parénquima del nectario a las células pequeñas y con citoplasma denso por debajo de la epidermis, apoyándose en lo mencionado por Fahn (1979, 1988) y la presencia de un parénquima subnectarial, presentando células más grandes y menos empaquetadas, apoyando lo mencionado por Durkee (1983) y no relacionándose con la producción de néctar.

En cuanto al tejido vascular presente, puede ser xilema y floema asociados o solamente floema (Fahn, 1988; Evert, 2006); encontrándose en el parénquima nectarial o en el subnectarial (Nepi, 2007).

El floema es el tejido que por lo general irriga los nectarios y es de éste provienen los nutrientes que abastecerán a las células nectaríferas para que produzcan el néctar. El flujo de nutrientes de los tubos cribosos hacia las células secretoras puede pasar por dos vías: por la vía apoplástica o la vía simplástica (Gaffal *et al.*, 2007). El floema se encuentra generalmente por debajo del tejido nectarífero como en *Lythrum salicaria* (Caswell y Davis, 2011). En el caso de la *Glycine max* (Fabaceae) el floema entra hasta el tejido nectarífero activo (Horner *et al.*, 2003). En *Ecballium elaterium* (Cucurbitaceae), una especie monoica, en las flores masculinas el tejido vascular entra al tejido nectarífero y en las flores femeninas el tejido vascular sólo llegan por debajo del tejido secretor (Fahn y Shimony, 2001).

Si todas estas características, es decir presencia de epidermis, tejido secretor y tejido vascular se cumplen entonces es un nectario *estructural*, de lo contrario recibe el nombre de nectario *no estructural* (Nepi, 2007; Bernardello, 2007). Un nectario *estructural* puede ser reconocido macroscópicamente y está anatómicamente diferenciado del resto del tejido, por el contrario uno *no estructural* no posee un tejido diferenciado del resto (Fahn, 1979)

Clasificación de los nectarios

Una de las primeras clasificaciones de los nectarios está basada en la posición de éstos, al dividirlos en nectarios florales y extraflorales, dependiendo si el nectario se encuentra asociado a alguna parte floral, en el primer caso y al contrario en el segundo caso (Caspary, 1848).

En cactáceas se presentan los dos tipos de nectarios. Los nectarios extraflorales se encuentran principalmente asociados a las areólas como en *Cylindropuntia imbricata*, *Cereus perambucensis* y *Ferocactus pilosus* (Fahn, 1979a). También se presentan en algunas columnares como *Neobuxbaumia euphorbioides* y *N. scoparia* (Terrazas y Loza-Cornejo, 2002)

La segunda clasificación fue acuñada por Delpino en 1873 (citado por Schmid, 1988) clasificándolos en nupciales y extranupciales. Los nupciales están relacionados con la polinización y los dividió en intrafloral, circumfloral y extrafloral, dependiendo de su localización en la flor. Los extranupciales no están relacionados con la polinización y los dividió en extraflorales y circumflorales, ya que puede haber nectarios en la flor, pero que su función no estuviera ligada a la polinización.

En cuanto a posición y morfología se ha dividido a los nectarios en dos clases diferentes: los nectarios de disco, que son exclusivos de las dicotiledóneas y los nectarios septales, que únicamente se presentan en las monocotiledóneas (Rudall *et al.*, 2003). Los nectarios de disco forman un anillo en la base de los carpelos o del cáliz y los septales son los que se encuentran en los septos de los carpelos.

Existe otra clasificación en donde se describen tres clases de nectarios por su conformación histológica: mesofilares, epiteliales y tricomáticos.

Los mesofilares son los que presentan el tejido vascular y el parénquima de secreción asociado, la secreción se da por aberturas nectariales, estas aberturas son estomas que perdieron la función de cerrarse, se encuentra principalmente en los nectarios con forma de disco. Los epiteliales presentan el tejido glandular formado por parénquima empalizada con citoplasma y núcleos grandes e incluso presentan varias capas subepidérmicas diferenciadas en glándulas, éstos son generalmente del tipo extrafloral. Los tricomáticos están formados por una epidermis secretora o tricomas además del tejido nectarífero diferenciado debajo de éstos, presentan en la parte inferior haces vasculares

que se ramifican a lo largo del tejido secretor, se encuentran principalmente en Malvales y Dipsacales (Vogel, 1977; Endress, 1994; Fahn, 1998; Bernardello, 2007).

Néctar

El néctar es el producto final del tejido nectarífero, es una solución que está compuesta principalmente por azúcares que funcionan como atrayentes para los polinizadores, pero también presenta otros compuestos (Baker y Baker, 1983; Dafni, 1992; Heil, 2011; Hillwig *et al.*, 2011). Los azúcares más importantes, son la sacarosa, fructosa y glucosa. Se divide en tres tipos: el *dominante en sacarosa*, el *dominante en fructosa y glucosa*, así como el que presenta la *misma concentración de glucosa, fructosa y sacarosa* (Percival, 1961; Fahn, 1979a; Baker y Baker, 1983; Bahadur *et al.*, 1998).

Se encuentran presentes también en algunas ocasiones los oligosacáridos como maltosa, rafinosa o melobiosa (Percival, 1961). La presencia de éstos podría deberse a la composición de los líquidos del floema, que pasan al nectario y no se transforman, secretándose en su misma forma estructural (Nicolson y Thornburg, 2007; Heil, 2011).

El néctar rico en hexosas se evapora más lentamente que el rico en sacarosa, ya que en el primero hay una mayor osmolaridad, al mismo volumen y misma concentración de azúcar, esto es importante en plantas desérticas (Bahadur *et al.*, 1998; Nicolson y Thornburg, 2007).

El néctar contiene además aminoácidos, que han sido reportados como una de las características más importantes después de los carbohidratos. La cantidad y composición de éstos depende del tipo de polinizador (Baker, 1977; Dafni, 1992; Nicolson y Thornburg, 2007).

Por otro lado se han encontrado proteínas, principalmente enzimas, especialmente invertasa y RNasas (Nicolson y Thornburg, 2007; Heil, 2011; Hillwig *et al.*, 2011).

Además de estos tres componentes principales (carbohidratos, proteínas y aminoácidos), se han reportado compuestos traza como: lípidos, aceites esenciales, iones minerales, antioxidantes, pigmentos y metabolitos secundarios (Baker, 1977; Baker y Baker, 1983; Dafni, 1992; Bahadur *et al.*, 1998).

En conjunto todas estas características pueden determinar el tipo de polinizador que se va a alimentar del néctar, es decir el néctar de las flores quiropterófilas no sería el mismo que el de las flores melitófilas. En cuanto a características físicas, las diferencias principales entre flores quiropterófilas y flores polinizadas por otro tipo de animal son: volumen y viscosidad. El volumen es una de las características más distintivas, siendo mayor en flores quiropterófilas, comparada con flores polinizadas por aves o insectos (Fahn y Shimony, 2001; Fleming *et al.*, 2009). La viscosidad está relacionada con la concentración y es importante por la cantidad de energía necesaria para el consumo de néctar, por ejemplo

una polilla que utiliza la capilaridad para alimentarse, la viscosidad y la concentración de solutos deberán ser bajas, de lo contrario necesitará de mayor energía para alimentarse. Para un murciélago, la cantidad de veces que necesita meter la lengua y el néctar que obtiene cada vez, está dada por la viscosidad y concentración de solutos, si estas características son más elevadas, entonces invertirá menor cantidad de energía en alimentarse (Nilcolson y Thornburg, 2007).

Por último las diferencias más puntuales son sin duda, las diferencias químicas. El néctar producido por flores polinizadas por insectos es rico en sacarosa y con mayor concentración de aminoácidos, mientras que las flores quiroterófilas presentan mayor concentración de glucosa, fructosa y menor concentración de aminoácidos; en cuanto a los aminoácidos, no significa que la composición de éstos sea igual entre los diferentes tipos de flores (Baker y Baker, 1983; Dafni, 1992; Bahadur et al., 1998; Nilcolson y Thornburg, 2007).

Origen del néctar

El origen del néctar es aún un tema de discusión, se plantea la presencia de sacarosa sintasa para la formación de hexosas a partir de la sacarosa, por ejemplo en *Petunia hybrida* (Solanaceae) se logró aislar los genes NEC1 y GUS que son los responsables de la generación de proteínas para la hidrólisis del almidón y por lo tanto de la producción de los azúcares que componen al néctar (Ya-Xin, 2000; Carter y Thornburg, 2004), pero en *Digitalis purpurea* (Plantaginaceae) se encontró que sólo con esta hidrólisis sería casi imposible alcanzar la concentración de azúcares reportada para esa especie, por lo que también se necesita del flujo de los nutrientes directamente proveniente del floema (Gaffal et al. 2007). NEC1 también se encuentra relacionado con el desarrollo de las células del floéma, que van a transportar los azúcares necesarios para el néctar y con la secreción en los nectarios de *Brassica napus* (Brassicaceae; Ya-Xin, 2000).

El «*pre-néctar*», es decir el conjunto de nutrientes que no ha sido metabolizado en las células secretoras, que proviene principalmente del floema, se mueve de los tubos cribosos hacia el tejido nectarífero, ahí se puede modificar enzimáticamente, es decir, este líquido se transforma y se almacena en amiloplastos, formando almidón, para que después se hidrolice y forme parte del néctar (Fahn, 1988; Fahn y Shimony, 2001; De la Barrera y Nobel, 2004; Stpiczynska, et al., 2005).

El movimiento del «*pre-nectar*» se da por un gradiente de concentración provocado por la hidrólisis de la sacarosa en el tejido secretor, siendo entonces un movimiento principalmente por la vía del simplasto (Durkee, 1981; Heil, 2011).

Aunque también hay un movimiento bidireccional de los azúcares, del tejido secretor hacia el exterior y del néctar secretado hacia el interior de las células del nectario, lo que tiene como resultado la composición final de los azúcares del néctar (Bieliski y Redgwell, 1980; Burquez y Cordet, 1991; Heil, 2011). Durkee et al. (1981) propusieron que también la

presencia de células acompañantes grandes era importante en cuanto a la translocación de azúcares, debido al intenso movimiento de estos carbohidratos.

El flujo bidireccional del néctar puede tener dos significados: la regulación de los azúcares presentes en el néctar, a la concentración «ideal» y la segunda a la regulación del costo energético que tiene la producción de néctar. En *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae) y en *Platanthera chlorantha* (Orchidaceae) se demostró que hay una reabsorción del néctar residual en las flores que son fecundadas, esta energía obtenida es utilizada para el desarrollo de la semilla (Nepi y Stpiczynska, 2007, 2008). Después de que el nectario termina su función productora de néctar, este tejido entra en muerte celular programada, dejando solo las paredes celulares para la protección de los óvulos, solo algunas células aisladas quedan funcionales siendo las que transportaran los nutrientes de regreso a la planta (Gaffal *et al.*, 2007).

De la Barrera y Nobel (2004) mencionan que el origen evolutivo del néctar no está relacionado con las interacciones que tiene con los polinizadores y se han propuesto dos hipótesis. La primera sugiere que el néctar pudo haberse originado por fugas en el floema resultante de la debilidad estructural que desarrollaron algunos tejidos expuestos a la elevada presión del floema. La segunda sugiere que el néctar se originó como una manera de eliminar el exceso de solutos suministrados por el floema en la flor en antesis.

Los polinizadores según Galetto (2009) primero actúan modificando el néctar (cambios evolutivos primarios) para después afectar la morfología floral (cambios evolutivos secundarios). Los polinizadores son entonces los que van modificando a lo largo de la evolución química del néctar.

Nectarios florales

Los nectarios florales son los que se encuentran al interior de la flor, pueden encontrarse en diferentes regiones de ésta, siendo así como se clasifican (Fahn, 1979a; Schmid, 1988). Generalmente este tipo de nectarios se encuentran relacionados a la polinización.

Otra manera de clasificarlos depende si están asociados a partes florales que sean persistentes (*nectaria persistentia*) como los carpelos o en el cáliz, caducas (*nectaria caduca*) como en pétalos o estambres y en postflorales, si continúan con la producción de néctar mucho tiempo después de la antesis, cambiando de función como por ejemplo atrayendo hormigas para la protección de frutos (Endress, 1994; Bernardello, 2007).

Existen varios caracteres utilizados en sistemática para determinar con más precisión el tipo de nectario dependiendo de su posición (Tabla 1), ésta clasificación de los nectarios florales es la que se utilizará en este trabajo.

Tabla 1 Clasificación de Schmid (1988) para distinguir a los nectarios de acuerdo a su posición floral o a estructuras asociadas a la flor.

<i>Posición</i>	<i>Nombre</i>
Inflorescencia	Inflorescente
Pedúnculos o pedicelos	Peduncular o pedicelar
Brácteas, bractéolas e involucros	Bracteal, bracteolar o involucral
Flores	Floral
Frutos	Post-floral o frutal
Receptáculos	Receptacular <ul style="list-style-type: none"> • Extraestaminal • Intraestaminal • Interestaminal
Hipantio	Hipantial
Tépalos	Perigonal
Sépalos	Del cáliz
Pétalos	De la corola
Estambres	Estaminal
Filamentos	De filamento
Anteras	De antera
Estaminodios	Estaminoidal
Pistilos	Ginecial
Estigma	Estigmático
Estilo	Estilar
Pistilodio	Pistiloidal o carpeloidal
Ovario	<ul style="list-style-type: none"> • En regiones externas • En región septal
	<ul style="list-style-type: none"> • Ovárico o no septal • Septal o ginopleural

Función de los nectarios florales en plantas

La función de los nectarios florales en las angiospermas ha sido generalmente asociada a la polinización. La polinización es el fenómeno por el cual se transportan los granos de polen de las anteras de una flor al estigma de otra flor (Proctor *et al.*, 1996; Pellmyr, 2002).

Las consecuencias de la polinización son la fecundación de la ovocélula, para dar lugar al embrión y la fecundación de los núcleos polares dando lugar al endospermo formando la semilla, ayudando así a la propagación o mantenimiento de la población de una especie.*

La biología floral de las angiospermas está dominada por la polinización biótica (Waser y Ollerton, 2006; Fleming *et al.*, 2009). El tipo de polinizadores alcanza un amplio rango desde insectos hasta mamíferos, la polinización por insectos es la más común y por vertebrados es la menos frecuente (Proctor *et al.*, 1996; Fleming *et al.*, 2009). Dependiendo de la especificidad de las flores a un tipo de polinizador reciben el nombre de flores polifílicas, si reciben a un amplio espectro de polinizadores, oiligofílicas, en el caso de que se encuentren adaptadas a un grupo pequeño de polinizadores y monofílicas si son polinizadas por una sola especie (Endress, 1994).

Familia Cactaceae

Cactaceae (Orden Caryophyllales), es una de las familias botánicas más características de América, cuenta con alrededor de 100-110 géneros y más de 1500 especies. Tuvo su origen en la región central de Sudamérica y su distribución actual alcanza desde Argentina hasta Canadá (Bravo-Hollis, 1978; Anderson, 2001; Nyffeler, 2002).

Es un grupo monofilético dentro del orden Caryophyllales y se caracteriza por presentar tallos suculentos, un córtex fotosintético bien desarrollado, meristemas apicales organizados en cuatro zonas distintas, ovario ínfero (excepto en *Pereskia*) y tal vez la característica más importante: la presencia de aréolas, que son zonas meristemáticas a lo largo del tallo y el fruto en algunos casos (Britton y Rose, 1919; Bravo-Hollis, 1978; Nyffeler, 2002; Edwards *et al.*, 2005, 2006).

Se divide taxonómicamente en cuatro subfamilias: Pereskioideae, Maihuenioideae, Opuntioideae y Cactoideae. La subfamilia Pereskioideae es de origen parafilético y se caracteriza principalmente por la presencia de hojas con metabolismo C₃, incluye solo un género (*Pereskia*) con 17 especies. Maihuenioideae fue incluida en la clasificación de Anderson (2001), es un grupo monofilético caracterizado principalmente por la presencia de hojas persistentes y peridermis precoz en el tallo, con solo el género *Maihuenia* y 2 especies. Opuntioideae es un grupo monofilético con alrededor de 15 géneros y 349 especies, con la característica principal de poseer glóquidas y hojas no persistentes (Nyffeler, 2002; Edwards *et al.*, 2005; Nyffeler y Eggli, 2010; Bárcenas *et al.*, 2011; Hernández-Hernández *et al.*, 2011).

La subfamilia Cactoideae es la más diversa de las cuatro que componen a la familia Cactaceae, al igual que Opuntioideae y Maihuenioideae es un grupo monofilético (Wallace y Cota, 1996; Nyffeler, 2002; Hernández-Hernández *et al.*, 2011), las plantas de esta subfamilia se caracterizan por no tener hojas, poseer costillas o tubérculos y por no tener un intrón en el gen rpoC1 del cloroplasto, se divide en 9 tribus y contiene alrededor de 1530 especies (Anderson, 2001; Nyffeler y Eggli, 2010).

En México se encuentran alrededor de 511 géneros y aproximadamente 850 especies de la familia Cactaceae, de las cuales el 80% son endémicas. En el Valle de Tehuacán-Cuicatlán se han reportado 24 géneros y 76 especies nativas, de las cuales se reconoce que 20 son endémicas y pertenecen a las tribus Pachycereeae y Cacteeae, de la subfamilia Cactoideae (Arias *et al.*, 1997).

Tribu Pachycereeae*

La tribu Pachycereeae engloba a las especies columnares desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Venezuela (Gibson y Nobel, 1986; Dávila-Aranda *et al.*, 2002). Es la segunda tribu más amplia de las cactáceas de Norteamérica (Hernández-Hernández *et al.*, 2011), Barba (2002) postula que tiene una edad de 8.52 millones de años.

La tribu Pachycereeae es monofilética (Wallace, 2002). Se caracteriza porque sus individuos poseen glicósidos triterpénicos o alcaloides tetrahidroisoquinólinicos en el tallo, por poseer una hipodermis colenquimatosa y por cristales de sílice u oxalato de calcio en su epidermis (Gibson y Horak, 1978, Gibson, 1982).

Esta tribu a su vez, engloba a las subtribu Pachycereineae y Stenocereineae, la primera evolutivamente más reciente que la segunda (Gibson, 1982; Wallace, 2002; Barba, 2009 Hernández-Hernández *et al.*, 2011). La subtribu Pachycereineae es definida por la presencia de alcaloides tetrahidroisoquinólinicos y cristales de oxalato de calcio en el tejido epidérmico, así como caracteres de la semilla (Gibson y Horak, 1978; Gibson y Nobel, 1986, Arias y Terrazas, 2006). Esta subtribu no es monofilética y tiene una edad de 4.65-5.73 m.a. e incluye a los géneros *Bergerocactus*, *Carnegiea*, *Pachycereus*, *Peniocereus*, *Neobuxbaumia* y *Cephalocereus*. (Arias *et al.*, 2003; Barba, 2009)

Pachycereeae incluye alrededor de 58 especies y 13 géneros, de las cuales 54 se encuentran registradas para México, con 7 géneros y 47 especies endémicas. En nuestro país se encuentran principalmente a lo largo de la costa del pacífico y con mayor abundancia en la zona del valle de Tehuacán-Cuicatlán (Dávila-Aranda *et al.*, 2002).

Su origen se asocia a la región centro-norte de Sudamérica, la radiación de este grupo ocurrió principalmente en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán y en la Depresión del Balsas, ya que es el sitio donde habitan las especies con mayor número de caracteres primitivos (Bravo-Hollis, 1978; Gibson, 1982; Gibson y Nobel, 1986; Edwards *et al.*, 2005; Barba, 2009).

La mayoría de las flores presentan un síndrome de polinización quiropterófilo, al presentar anthesis nocturna, flores robustas, con los tépalos en colores claros y con gran abundancia de polen y de néctar (Buxbaum, 1953; Gibson y Nobel, 1986; Barba, 2012).

*Recientemente Nyffeler (2010) sugiere la reorganización de esta categoría taxonómica, englobándola dentro de la subtribu Echinocereineae, como resultado de una revisión de las filogenias moleculares hasta ese momento publicadas.

Nectarios florales en Cactáceas

Para el orden Caryophyllales se han encontrado principalmente nectarios receptaculares, estaminales e intraestaminales, en el caso de los florales, así como nectarios extraflorales. Se ha encontrado que la forma más común de secreción es por medio de nectarosomas, es decir estomas que han perdido la capacidad de cerrarse (Bernardello, 2007).

El estudio sistemático de los nectarios florales en cactáceas ha sido muy pobre, la mayoría de las referencias citadas son estudios enfocados a otros objetivos y que mencionan al nectario de manera colateral. A pesar de eso, se han encontrado reportes de varias especies incluyendo a tres de las cuatro subfamilias, como se presenta a continuación.

Una de las primeras descripciones de los nectarios en cactáceas la realizó Buxbaum (1953), mencionando que *Pereskia* y *Opuntia* presentaban nectarios primitivos, comparados con lo que ahora sería Cactoideae, realizando solo la clasificación para este último grupo.

Fahn (1979) utilizando a *Pereskia* (Pereskioideae) como modelo reportó que los nectarios en cactáceas se encontraban en el receptáculo. El nectario en *Pereskia lychnidiflora* se encuentra entre los estambres y el ovario según lo reporta Montero (2004).

La secreción del néctar en *Pereskia* (Pereskioideae) y *Rhipsalis* (Cactoideae: tribu Rhipsalideae) es por un nectario receptacular anular o a través de la porción basal del hipantio (Barthlott y Hunt, 1993) en éste último se forman cámaras nectariales constituidas por diferentes órganos, como los filamentos o apéndices que imposibilitan la salida del néctar en muchas especies de cactáceas (Bernardello, 2007).

En *Opuntia* (Opuntioideae) el nectario se encuentra por debajo de los filamentos de los estambres más internos, en forma de anillo rodeando al estilo, siendo éste hipantial, las características estructurales básicas presentes son citoplasma denso y granular, así como núcleos grandes (Fuentes-Pérez, *et al.*, 2009). Aunque Montero (2004) reporta que en *Opuntia tomentosa* el nectario se encuentra en la parte basal de los filamentos de los estambres. *Nopalea* (Opuntioideae) al contrario de *Opuntia* posee una proyección que pareciera se origina en el estilo, protegiendo la cámara nectarial y al nectario en sí (Buxbaum, 1953). En *Mammillaria san-angelensis* (tribu Cacteeae: Cactoideae) el nectario se encuentra en la base de los filamentos de las anteras (Montero, 2004).

Se ha encontrado que en *Epiphyllum phyllanthus* (tribu Hylocereeae) hay presencia de nectarios post-florales en el fruto, es decir que su producción de néctar continua mucho tiempo después de la antesis, para atraer hormigas que dispersen sus semillas (Davidson, 1988). En esta especie el estudio de morfología floral desarrollado por García de Almeida *et al.* (2010) reportó que esta cactácea epífita, polinizada principalmente por polillas nocturnas, presenta un nectario floral de tipo hipantial, con haces vasculares cercanos al tejido secretor, pero con mayor abundancia de floema que de xilema, siendo el modo de secreción es por medio de tricomas glandulares.

Montero (2004) realizó un estudio comparando *Pereskia lychnidiflora* (Pereskioideae), *Opuntia tomentosa* (Opuntioideae) y *Mammillaria san-angelensis* (tribu Cactaceae: Cactoideae), determinando que las tres presentan nectarios de disco (receptacular), mesofilares y la secreción se da por estomas, aunque *P. lychnidiflora* presente también poros.

En cuanto al néctar Bourquez y Corbet (1991) proponen que en Cactaceae el néctar producido durante la noche proviene de los tejidos y sustancias de reserva como el almidón y que la producción de néctar está asociada con la apertura estomática y la translocación de estos carbohidratos, al ser plantas CAM.

Nectarios y néctar en cactáceas columnares

Los nectarios en la tribu Pachycereeae han sido muy poco estudiados, principalmente en su anatomía, por lo que aún falta trabajo por hacerse en esta tribu (Tabla 2). Buxbaum (1953) reconoce para las cactáceas columnares tres tipos de nectarios: de disco, de embudo y de cámara nectarial, siendo el primero en darle importancia a ese órgano. El nectario de disco, se encuentra en la base del tubo receptacular formando precisamente un disco alrededor del estilo. El nectario tipo embudo se encuentra cercano al estilo, formando una cavidad, pero esta no está formada ni ocluida por los filamentos de los estambres. En el tipo cámara nectarial, el nectario se encuentra por arriba del ovario, en una cámara formada y ocluida por los filamentos de los estambres.

Los géneros *Cephalocereus* y *Neobuxbaumia* presentan según Buxbaum (1953) cámara nectarial (nectario hipantial). *Pachycereus pecten-aboriginum* presenta una epidermis con abundancia de tricomas en la cámara nectarial, siendo una característica compartida del género. Fuentes-Pérez (2004) reportó que el género *Neobuxbaumia* presenta un tejido nectarial o secretor con dos tipos celulares y no sólo uno.

Percival (1960) estudió la composición de carbohidratos en el néctar de varias familias vegetales, en la familia Cactaceae reportó néctar dominante de sacarosa utilizando *Opuntia*, *Epiphyllum*, *Mamillaria*, *Rhipsalis* y dominante en fructosa y glucosa como *Hatiora gaertneri*. En el caso de *Carnegiea gigantea*, presenta una concentración de fructosa de 39% y de sacarosa de 20%, *Lemaireocereus thurberi* de 36% y 17% respectivamente, así como *Opuntia* sp. de 39% y 4% de la misma manera, observando que son néctares ricos en glucosa, en general se ha reportado una concentración de sacarosa de 13.7% para el néctar de las cactáceas polinizadas por murciélagos (Baker, Baker y Hodges, 1998). *Stenocereus griseus* presenta un néctar rico en hexosa, 81.2%-70.1%, de la misma manera *Subpilocereus repandus* el néctar presenta una concentración de hexosa de 85.4%-67.0%; la glucosa es la principal fuente de carbohidratos en estas muestras siguiéndole la fructosa y la sacarosa en importancia, el volumen del néctar en anthesis alcanza los 0.5 ml para las dos especies, se cree que hay reabsorción del néctar, ya que tanto el volumen como la concentración de azúcares se reduce con el tiempo en plantas no polinizadas (Petit y Freeman, 1997).

Tabla 2. Estudios específicos de nectarios en la tribu Pachycereae.

Estudio	Especies	Cámara nectarial o tipo de nectarario	Modo de secreción	Autores
Morfológico	<i>Cephalocereus columna-trajani</i>	Cámara nectarial, apertura medio abierta.	-	Buxbaum, 1953
	<i>Neobuxbaumia polylopha</i> <i>Backebergia militaris</i>	Cámara nectarial, apertura cerrada.	-	
Anatómico	<i>Escontria chiotilla</i>	Nectarios tipo embudo.	Estomas en todas las especies estudiadas	Fuentes-Pérez, 2004
	<i>Myrtillocactus geometrizans</i>			
	<i>Lophocereus schottii</i>	Cámara nectarial con tipo de apertura abierta,		
	<i>Neobuxbaumia mezcalaensis</i>	nectarios hipantiales.		
	<i>Pachycereus pecten-aboriginum</i>			
Anatómico	<i>Polaskia chichipe</i>	Nectarios en forma de disco,	Fisuras	Gudiño, 2012
	<i>Polaskia chichipe</i>	nectario hipantial.	Poros	
	<i>Stenocereus quevedonis</i>		Estomas	

El estudio más amplio de néctar en cactáceas columnares lo llevó a cabo Santos (2002) y Santos (2006) encontrando que las siguientes especies: *Neobuxbaumia mezcalaensis*, *N. macrocephala*, *N. tetetzo*, *Stenocereus stellatus*, *Cephalocereus columna-trajani*, *Myrocereus fulviceps*, *Pachycereus hollianus* y *P. chrysanthus* presentan néctares dominantes en glucosa y fructosa, con los picos de producción rondando entre las 11:00 pm y las 3:00 am.

Gudiño *et al.* (2011) reportaron para *Polaskia chende* y *P. chichipe* (subtribu: Stenocereineae) que la concentración de azúcares es de 33.9-27.6° Brix y que los picos de producción de néctar se dan entre las 12:00 am y 5:00 pm. Por otro lado Gudiño (2012) realizó un estudio sobre la estructura de los nectarios florales en las dos especies anteriores y en *Stenocereus quevedonis*, encontrando los caracteres reportados en la tabla 2.

Hibridación en cactáceas columnares

La hibridación es la cruce espontánea entre dos individuos provenientes de diferentes linajes, aunque, mientras más cercanas filogenéticamente sean las especies, más probable es que este fenómeno se lleve a cabo, un híbrido es el producto de éste fenómeno (Knobloch, 1972; Grant, 1989). El individuo híbrido se forma debido principalmente a dos causas: a que las especies parentales coexisten en un mismo espacio y a que sus barreras reproductivas son laxas (Grant, 1989; Machado, 2008).

En Cactaceae es un fenómeno ampliamente reportado y se cree que es un fenómeno de relevancia en la evolución de la familia (Powell *et al.*, 1991; Pinkava, 2002; Machado, 2008). Dentro de la tribu Pachycereeae existen ejemplos como: x*Pacherocactus orcuttii*, producto de *Pachycereus pringlei* y *Bergerocactus emoryi* (Moran, 1962a), x*Myrtgerocactus lindsayi*, producto de *Bergerocactus emoryi* y *Myrtillocactus cochal* (Moran, 1962b), x*Myrtillocereus*, producto de *Myrtillocactus geometrizans* y *Stenocereus dumortieri* (Glass y Foster, 1964 citado en Arias y Terrazas, 2008) y x*Pachebergia apicicostata* producto de *Pachycereus pecten-aboriginum* y *Backebergia militaris* (Arias y Terrazas, 2008).

Vite *et al.* (1996) reportaron la existencia de un híbrido entre las cactáceas columnares *N. tetetzo* y *C. columna-trajani*, identificando a los individuos por presentar en el ápice del tallo una estructura intermedia entre el cefalio de *C. columna-trajani* y la ausencia de este en *N. tetetzo*, aunado a que los individuos se encontraban en una zona de solapamiento poblacional de las especies anteriores, posteriormente utilizaron caracteres morfológicos como el número de aréolas, costillas y ramificaciones, presentando características intermedias entre las dos especies parentales. Concluyendo así que se trataba de un híbrido.

A partir de entonces el conocimiento respecto a este híbrido ha sido mínimo, Merino (2011) en un análisis del androceo, reporta que el polen del híbrido se encuentra morfológicamente bien desarrollado, con alta viabilidad y que son más similares a los de *C. columna-trajani*. Ochoa (2012) en su trabajo de biología reproductiva del híbrido, encuentra que este híbrido presenta un sistema de apareamiento alógamo estricto y que es autoincompatible.

Neobuxbaumia tetetzo y *Cephalocereus columna-trajani* comparten a los murciélagos como polinizadores, podría esperarse que gracias a estos y a unas probables débiles barreras reproductivas, se lleven a cabo estos procesos de hibridación. La recompensa que obtienen los murciélagos por polinizar a las flores, de éstas y otras especies, es el néctar. Sería esperable entonces, que las características del néctar y del órgano encargado de producirlo, sean similares, de la misma manera en el caso de los individuos híbridos producto de estas dos especies.

Por lo cual el estudio de los órganos y recompensas que llevan a la polinización y su impacto favoreciendo y ayudando al establecimiento de híbridos cobra relevancia, más aún en la región en donde habitan, reconocida como el centro de diversificación más importante para la tribu Pachycereeae. Conociendo esta relación podría contribuir al mejor entendimiento de la importancia que tienen los polinizadores en la evolución de las cactáceas.

Objetivos

Describir la morfología y estructura de los nectarios, así como la forma de secreción y características del néctar producido en flores en anthesis de *Neobuxbaumia tetetzo*, *Cephalocereous columnna-trajani* y su híbrido.

Objetivos particulares

- Determinar la posición del nectario en *N. tetetzo*, *C. columnna-trajani* y el híbrido.
- Estudiar las características estructurales del tejido secretor en *N. tetetzo*, *C. columnna-trajani* y el híbrido.
- Estudiar la forma en la cual se secreta el néctar en *N. tetetzo*, *C. columnna-trajani* y el híbrido.
- Analizar el volumen y la cantidad energética del néctar *N. tetetzo*, *C. columnna-trajani* y el híbrido.

Metodología

Área de estudio. Reserva de la Biósfera Tehuacán-Cuicatlán (Fig. 1)

Se encuentra en la región sureste del estado de Puebla y la región noroeste del estado de Oaxaca, presenta un clima seco o árido, semicálido, con una marcada época de lluvias en verano; la precipitación promedio anual es de 380 mm y el promedio de temperatura anual es de 21.2 °C, estas características están determinadas por el efecto de sombra orográfica de la Sierra Madre Oriental (Arias *et al.*, 2000). El tipo de vegetación según Rzedowski (1978) es Matorral Xerófilo.

La zona de Zapotitlán de las Salinas, Puebla se encuentra localizada en 17° 48' y 18° 58' de latitud norte y 97° 43' de longitud oeste. En el suelo de esta región predominan la roca caliza y los sedimentos aluviales ricos en carbonato de calcio (Valiente-Banuet *et al.*, 2009). Las cactáceas columnares que dominan en el valle son *Myrtillocactus geometrizans*, *Myrocereus fulviceps*, *Pachycereus hollianus* así como *Neobuxbaumia tetetzo* y *Cephalocereus columna-trajani*.

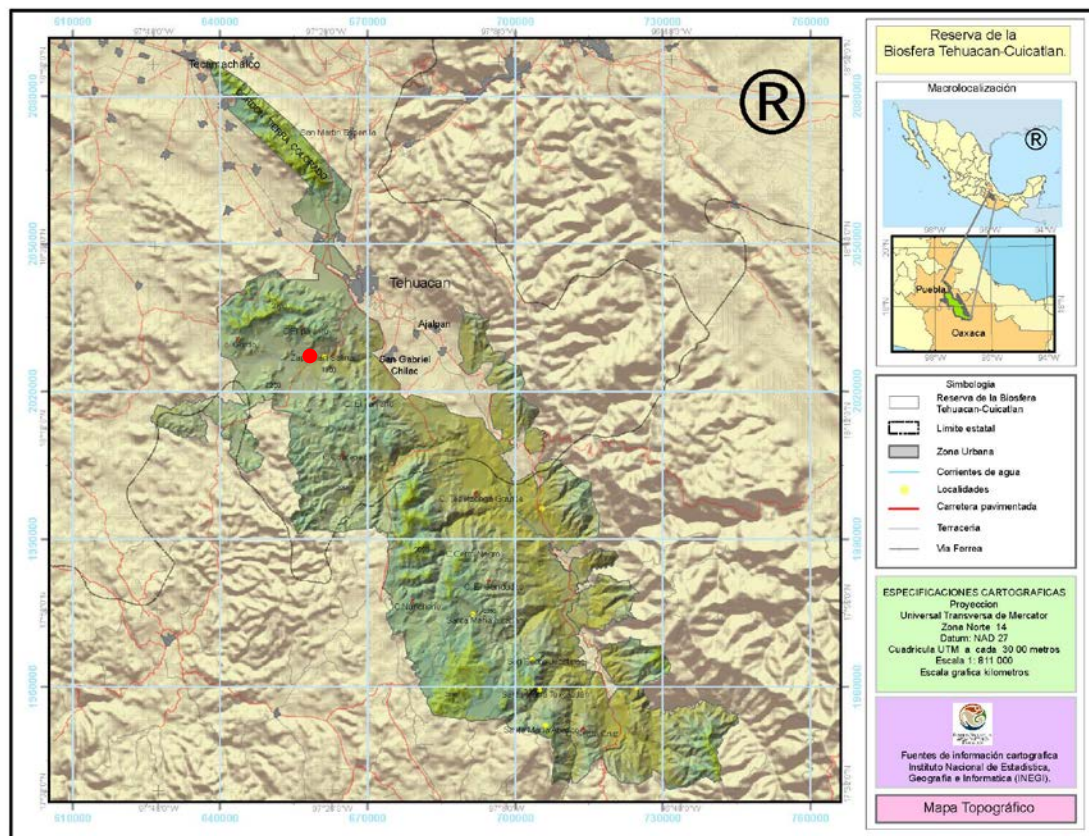


Figura 1. Polígono de la Reserva de la Biósfera Tehuacán-Cuicatlán, el punto rojo representa el sitio de colecta (Conanp, 2010).

Unidades de estudio

***Cephalocereus columna-trajani* (Karw.).** Subfamilia Cactoideae. Tribu Pachycereeae. Subtribu Pachycereineae

Plantas columnares hasta 10.0 m de alto, 40.0 cm de ancho. Tallos generalmente sin ramificación, ápice inclinado ligeramente, verde a gris claro. Costillas 16-34, espinas radiales 12-18, blancas. Zona fértil lateral-apical de 2-3 m de largo. Flores 6.2-7.5 cm largo, tubo receptacular de 3.5-3.8 cm de largo, blanco; estambres 0.5-1.0 cm de largo; estilo 4.2-5.0 cm de largo (Fig. 3A). Especie endémica del Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Bravo-Hollis, 1978; Arias *et al.*, 1997; Anderson, 2001). En la Fig. 2A se observa un individuo.

***Neobuxbaumia tetetzo* (F.A.C. Weber) Backeb.** Subfamilia Cactoideae. Tribu Pachycereeae. Subtribu Pachycereineae

Plantas arborescentes 1.5-15.0 m de alto. Tallo principal 30.0-60.0 cm de ancho, columnares cuando jóvenes, después ramifican, ramas terminales 10.0-20.0 cm de ancho verde-grisáceas. Espinas flexibles, zona fértil indiferenciada. Flores 4.7-5.5 cm de largo, tubular-infundibuliformes, tubo receptacular 2.2.-2.7 cm de largo; estambres 5.0-8.0 cm de largo, estilo 1.8-2.0 cm de largo (Fig. 2C y 3C).

Bravo-Hollis propone 2 variedades: var. *tetetzo* para las del Valle de Tehuacán-Cuicatlán y var. *nuda* para las del istmo de Tehuantepec, diferenciadas por la abundancia de espinas en los tallos y la consistencia de las brácteas del pericarpelo, tubo receptacular y fruto. Se encuentra en los estados de Oaxaca y Puebla (Bravo-Hollis, 1978; Arias *et al.*, 1997; Anderson, 2001).

Estas dos especies no se encuentran dentro de la NOM-059-SEMARNAT-2010 de protección ambiental de especies nativas de México y tampoco las podemos encontrar en los listados de CITES-2011.

***Cephalocereus columna-trajani* x *Neobuxbaumia tetetzo*.**

Plantas arborescentes 6-8 m de alto. Columnares cuando jóvenes e incluso en edades adultas, en algunos casos presentan un sistema de ramificación con un número de ramas intermedio entre *N. tetetzo* y *C. columna-trajani*, de la misma manera con valores intermedios en cuanto al número de costillas y el número de areolas (Fig. 2B). No presenta una estructura especializada para la reproducción, pero el ápice pubescente es similar a un pseudocefálio, como se observa en la Fig. 3B (Vite *et al.*, 1996). Las flores tienen una longitud promedio de 59.23 ± 2.65 mm, el ancho del perianto es de 20.12 ± 1.48 mm, las flores son hermafroditas (Ochoa,

2012). Se encuentra en zonas de solapamiento de poblaciones de *N. tetetzo* y *C. columna trajani* en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Vite *et al.*, 1996; Merino, 2011; Ochoa, 2012).

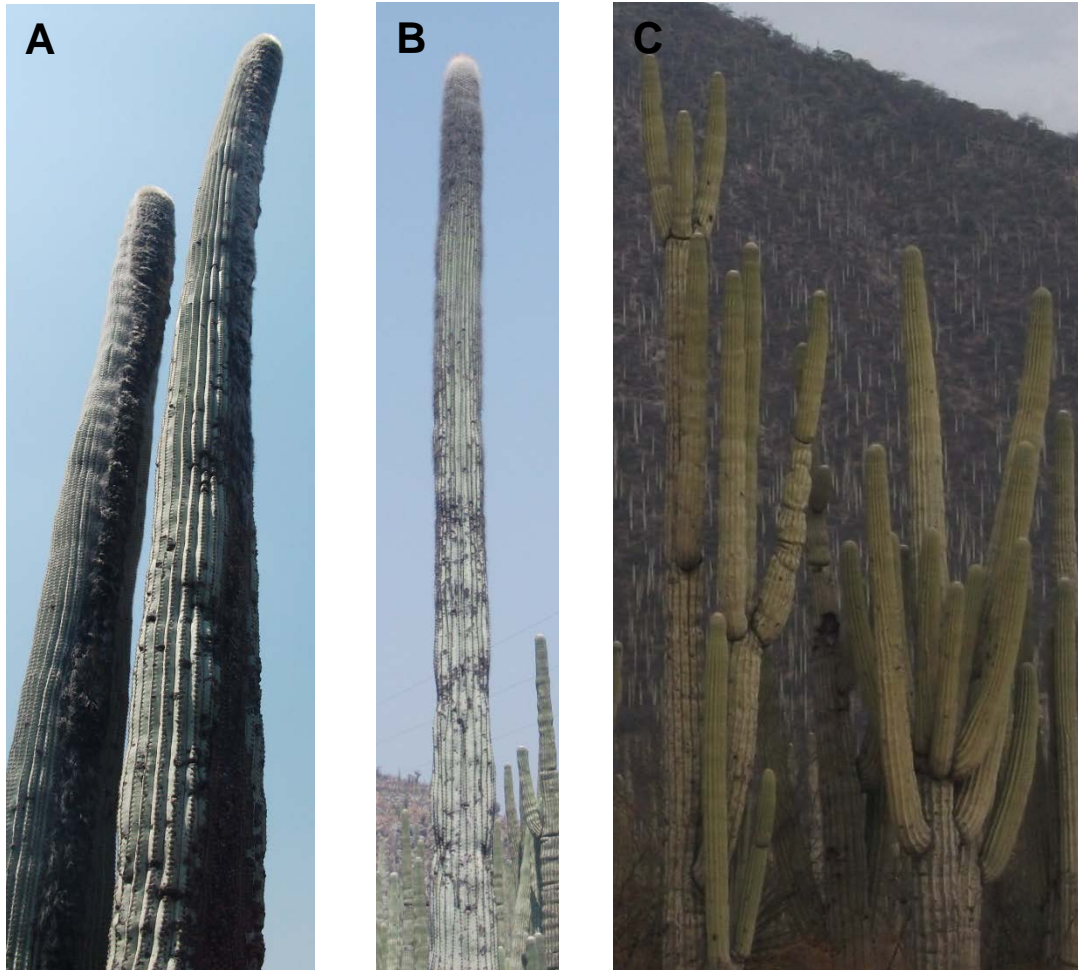


Figura 2. Especies estudiadas. *Cephalocereus columna-trajani* (A), híbrido (B) y *Neobuxbaumia tetetzo* (C).

Trabajo de Campo

En abril de 2008 se realizó la primera colecta de flores en antesis. Posteriormente en abril de 2012 se realizó una nueva colecta. La tabla 3 resume la colecta de flores en antesis de *Cephalocereus columna-trajani*, *Neobuxbaumia tetetzo* y su híbrido.

La colecta de néctar se realizó solo en abril de 2012. Se llevó a cabo durante tres días de las 8:00 pm a las 2:00 am, realizando un muestreo cada 3 h. Fueron 6 flores de 5 individuos del híbrido, 3 flores de 3 individuos de *C. columna-trajani* y 5 flores de 4 individuos de *N. tetetzo*. El néctar se colectó con pipetas de plástico, debido a la gran cantidad de néctar. La muestra se depositó en viales dentro de una hielera, posteriormente se registró el volumen

y los °Brix con un refractómetro de mano Leica 10431 con compensador de temperatura y se volvió a mantener en una hielera fría hasta su llegada al laboratorio.

Tabla 3. Número de muestra colectada de flores en antesis en 2008 y 2012.

	2008	2012
<i>Cephalocereus columna-trajani</i>	10 flores	4 flores (3 individuos)
<i>Neobuxbaumia tetetzo</i>	8 flores	4 flores (3 individuos)
Híbrido	5 flores	4 flores (4 individuos)

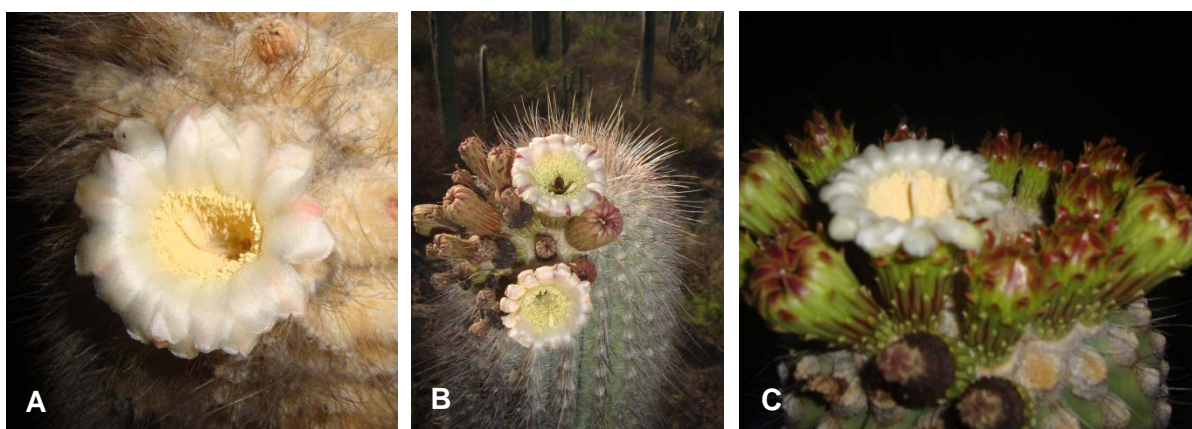


Figura 3. Flores en antesis y su ubicación en la planta. *Cephalocereus columna-trajani* (A), Híbrido, (B) y *Neobuxbaumia tetetzo* (C).

Microtécnica

Fijación

Se fijaron las flores completas en una mezcla de formaldehído, ácido acético glacial, alcohol etílico 96% y agua destilada (FAA), en una proporción de 10:5:50:35 (López *et al.*, 2005).

Inclusión

Paraplast®. Los nectarios (dos secciones) previamente disectados de flores en antesis, se deshidrataron en una serie de etanoles graduales, a partir de alcohol etílico a 30%, 50%, 70%, 85%, 96% y dos cambios en 100% con tiempos de 2 h en cada uno; después se comenzó la infiltración de parafina con xilol en diferentes proporciones (2:1, 1:1 y 1:2) por tiempos aproximados de 12 h como mínimo, a una temperatura entre 58 y 60 °C. Se colocaron en paraplast puro, orientando las muestras y dejándolas endurecer, finalmente se cortaron con un grosor de 7-8 µm (Ruzin, 1951; Montero, 2004; López *et al.*, 2005).

LR-White. Los nectarios previamente disectados se deshidrataron en una serie de alcoholes graduales hasta etanol 96%, con cambios de dos horas por cada concentración de alcohol, se hicieron dos cambios de una hora cada uno en etanol absoluto, posteriormente se infiltró por medio de concentraciones de LR-White 25%, 50% y 75% durante una hora cada una, después se hizo el cambio a LR-White puro, dejándolo mínimo un día (Ruzin, 1951; López *et al.*, 2005).

El tejido se orientó en cápsulas de gelatina y se llenó con LR-White puro para posteriormente polimerizarlas a 50 °C durante 12 h (López *et al.*, 2005).

Tinción

Safranina- verde rápido en metilcelosolve

Se desparafinaron los cortes sometiéndolos a una temperatura de 57 °C por 30 min, se hicieron 3 cambios de xilol, uno de xilol-etanol 100% (1:1) y se hidrataron parcialmente en una serie etanólica de 100% y 96% por 3 min cada uno. Posteriormente comenzó la tinción con safranina 1% en metilcelosolve por 24 h, se lavaron con agua y deshidrataron con alcohol 96% más ácido pícrico, después con etanol 96% más amoniaco, a continuación se deshidrataron en etanol absoluto y tiñeron con verde rápido, se lavaron con aceite de clavo y se aclararon con una mezcla de aceite de clavo, xilol y etanol absoluto. Finalmente se montaron con resina sintética (López *et al.*, 2005).

Azul de toluidina

Los cortes obtenidos de las cápsulas de LR-White se tiñeron con azul de toluidina por unos segundos, se lavaron con agua y se secaron en una parrilla (López *et al.*, 2005). Se montaron en resina sintética Entellan.

Pruebas Histoquímicas

En campo se realizó una prueba con material fresco, utilizando una flor de cada especie y del híbrido, dividiéndola longitudinalmente y sumergiéndola por 3 h en rojo neutro, colorante preparado en una proporción de 1:10,000 con agua destilada, el tejido secretor se tiñe de rojo intenso dando positivo.

Se realizaron tres pruebas utilizando cortes incluidos con Paraplast: azul negro de naftol OH 96% para presencia de proteínas, ácido periódico-reactivo de Schiff para polisacáridos insolubles y en lugol para almidón.

Azul negro de naftol

Se desparafinaron y rehidrataron los cortes en una serie de alcoholes graduales descendentes hasta etanol 50%, se aplicaron unas gotas de azul negro de naftol durante 5 minutos, se enjuagó con butanol y se pasó a xilol durante 3 min (López *et al.*, 2005). Se montaron en una resina sintética para su observación.

Las proteínas tiñen de azul en las reacciones positivas (López *et al.*, 2005).

Ácido peryódico-reactivo de Schiff

Se desparafinaron y rehidrataron los cortes en una serie de alcoholes graduales descendentes hasta agua, se aplicó ácido peryódico durante 15 min, se lavó con agua y se aplicó reactivo de Schiff por 15 min, se lavó con agua y posteriormente con ácido acético 2% por 1 min, se enjuagaron con agua y se deshidrataron hasta xilol (Ruzin, 1951; López *et al.*, 2005). Se montaron en resina sintética para su observación.

El almidón y algunos polisacáridos de la pared tiñen de rojo o magenta, así como algunos fenoles en una reacción positiva (Ruzin, 1951; López *et al.*, 2005).

Lugol

Se desparafinaron y rehidrataron los cortes en una serie de alcoholes graduales descendentes hasta agua y se aplicó lugol durante 5 min, se observaron al momento.

Los granos de almidón en una reacción positiva se tiñen de morado a negro (López *et al.*, 2005).

Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Se utilizó el material fijado en FAA, llevándolo a una serie de alcoholes graduales por dos horas a cada proporción como se menciona en la técnica de inclusión en Paraplast©, se llevó a punto crítico con CO₂ para poder montarlas y cubrirlas con oro para su posterior observación al MEB y la toma de micrografías.

Procesamiento y análisis de Néctar

Los datos de volumen obtenido en el campo, de cada especie y del híbrido, se promediaron y se graficaron con ayuda del programa GraphPad Prism 5©. También se obtuvo el valor de volumen acumulado, sumando el volumen obtenido durante toda la noche para cada taxa.

Con los °Brix obtenidos por el refractómetro en el trabajo de campo y con ayuda de la siguiente fórmula (Dafni, 1992) se calculó el valor energético del néctar*:

$$mg \text{ en néctar} = \frac{\% \text{ de azúcar}}{100} \times vol. \text{ en ml} \times densidad \text{ de la sacarosa}$$

Teniendo en cuenta que 1 mg de sacarosa= 16.8 Joules. En cuanto a la densidad de la sacarosa se determinó con ayuda de la tabla de “Densidad de sacarosa a 20 °C a varias concentraciones” contenida en Dafni (1992). De igual manera, los datos obtenidos de °Brix y calidad energética se promediaron, ubicándolos en una tabla.

*Los °Brix son la unidad primaria para la medición de sólidos disueltos, utilizada ampliamente en la industria de los alimentos. Corresponde al % de sacarosa en una solución, es decir si la solución presenta 5 °Brix, corresponde entonces a 5% de sacarosa (Instruction manual Hand-Held refractometers Models 10430, 10431, 10432).

Resultados

Localización y delimitación de los nectarios florales

Las flores de *Neobuxbaumia tetetzo*, *Cephalocereus columna-trajani* y su híbrido son hermafroditas, presentan una cámara nectarial en el tercio basal interno del tubo receptacular que está formada por la fusión de los filamentos de los estambres primarios, por lo tanto la pared tiene la apariencia de estrías longitudinales (Fig. 4).

La flor de *N. tetetzo* (Fig. 4A) presenta un pericarpelo con coloración blancuzca y los segmentos exteriores del perianto con coloración verde o verde-rojiza, siendo los tépalos de color blanco. En cambio la flor de *C. columna-trajani* (Fig. 4C.) presenta un color blancuzco en el pericarpelo y rosado muy pálido a lo largo del perianto incluyendo a los tépalos. La flor del híbrido (Fig. 4B) tiene un pericarpelo de color blanco y a lo largo de los segmentos exteriores del perianto es de color rojizo, siendo los tépalos de color rosado.

La pared de la cámara nectarial presenta un tejido secretor. En *N. tetetzo* tiene una posición superior, es decir más cercana a la primera serie de estambres (Fig. 5A). En *C. columna-trajani* se encuentra a todo lo largo de la cámara (Fig. 5C), mientras que en el híbrido el tejido secretor se ubica en la parte media de la cámara nectarial (Fig. 5B).

La cámara nectarial presenta una epidermis rica en taninos, con una zona subepidérmica bien delimitada de células más pequeñas, que representan a las células secretoras. Se observó que el tejido secretor se encuentra altamente vascularizado y en la región superior del ovario, entre la pared de la cámara y el estilo, se encuentra una zona con abundante colénquima, por debajo de ésta zona rica en colénquima hay una abundancia en células secretoras de mucílago, estas características las presentan los tres taxa (Fig. 6). El colénquima de la parte superior del ovario e inferior de la cámara nectarial, alcanza una profundidad de alrededor de 7-8 capas celulares en *N. tetetzo* y el híbrido, en *C. columna-trajani* 3-4 capas (Fig. 6).

En la epidermis exterior del perianto en *N. tetetzo* y el híbrido se encuentran de 2-3 capas subepidérmicas de colénquima, siendo que en *C. columna-trajani* solo 1-2 (Fig. 6). En los tres taxa la abundancia de células productoras de mucílago se ubica en la zona más cercana a la epidermis externa, aunque en *N. tetetzo* hay mayor abundancia en la zona más cercana al ovario (Fig. 6). La epidermis externa, está compuesta por células cúbicas en *N. tetetzo* y el híbrido, y en *C. columna-trajani* estas células son más alargadas, en los tres taxa son de pared primaria delgada y lisa.

Mediante la prueba de polisacáridos insolubles, APS (ácido peryódico-reactivo de Schiff), se identificó en los tres taxa una abundancia de estos compuestos en el parénquima que se encuentra por debajo del tejido secretor, formando una línea continua desde la base del

ovario hasta el final de la cámara nectarial. Junto con la prueba de lugol, se confirmó la presencia de almidón, por lo que éste representa un parénquima de reserva (Figs. 7, 8 y 10).

El parénquima de reserva está conformado por células con paredes primarias delgadas, estas células son de forma esférica o isodiamétrica, de tamaño mediano, presentan abundante almidón y es en este tejido donde se presenta la mayor abundancia de tejido vascular, estas características las presentan los tres taxa, aunque la abundancia del material de reserva es diferentes entre las dos especies parentales y el híbrido (Figs. 6, 7, 8 y 10).

Por último entre el parénquima de reserva y el colénquima de la epidermis del perianto, se encuentra otro tipo de tejido parenquimático, caracterizado por presentar células con paredes primarias delgadas, con forma isodiamétrica, sin contenidos celulares observables y de mayor tamaño que las células de parénquima de reserva, con la característica adicional de que en este tejido se encuentran embebidas la mayor parte de células de mucílago. Esto es en *N. tetetzo*, *C. columna-trajani* y el híbrido (Figs. 6, 7 y 8).

Para detectar la presencia de proteínas, se realizó la prueba histoquímica de azul-negro de naftol. Esta prueba junto con las otras nos dio como resultado la delimitación del tejido secretor en la zona de la pared de la cámara nectarial, además de mostrar que en *N. tetetzo* y el híbrido el contenido de las células de mucílago, contiene proteínas abundantes (Fig. 9). La abundancia de proteínas en el citoplasma de las células secretoras, comparado con el parénquima de reserva que se encuentra por debajo, es diferente mostrando mayor actividad en el tejido secretor de los tres taxa (Fig. 11).

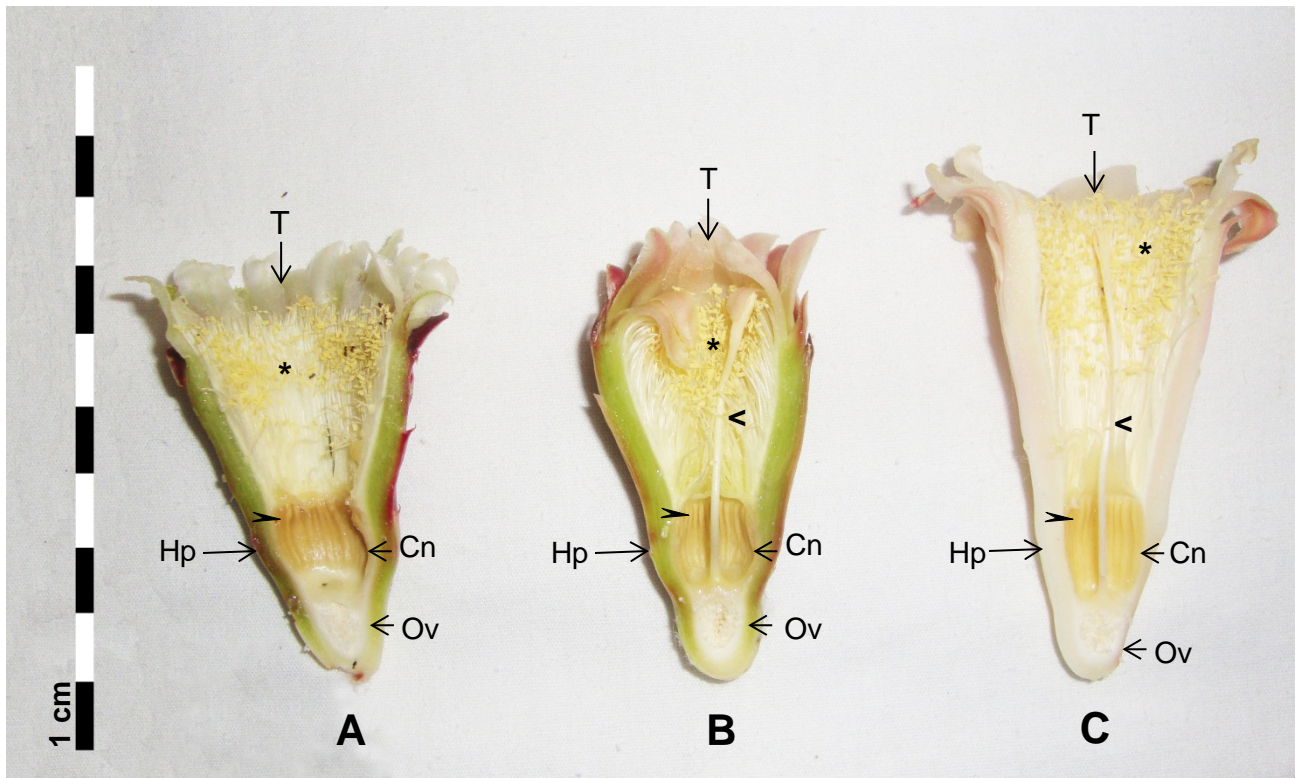


Figura 4. Flores en antesis de las especies estudiadas. A. *Neobuxbaumia tetetzo*, B. Híbrido, C. *Cephalocereus columna-trajani*. T= tépalos, *= estambres, >= estilo, Cn= cámara nectarífera, >= "estrias o costillas", Ov= ovario, Hp= hipantio.

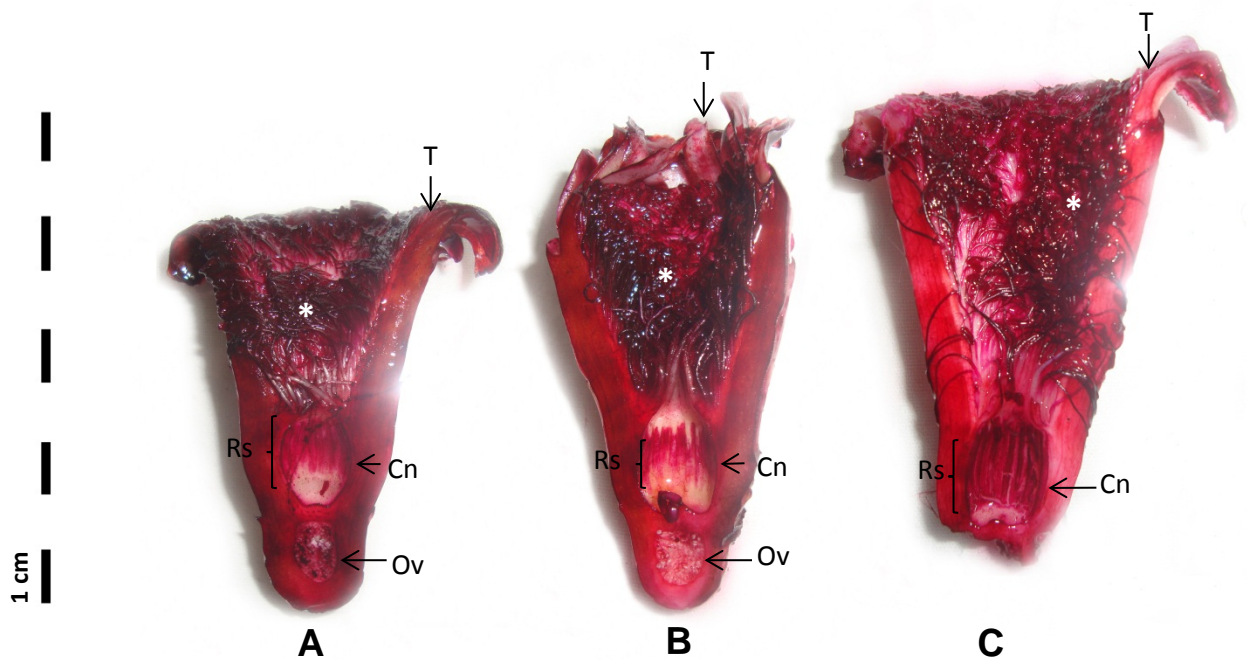


Figura 5. Flores de parentales e híbrido sumergidas en rojo neutro. A. *Neobuxbaumia tetetzo*, B. Híbrido, C. *Cephalocereus columna-trajani*. Rs= región secretora, T= tépalos, *= estambres, Cn= cámara nectarífera, Ov= ovario.

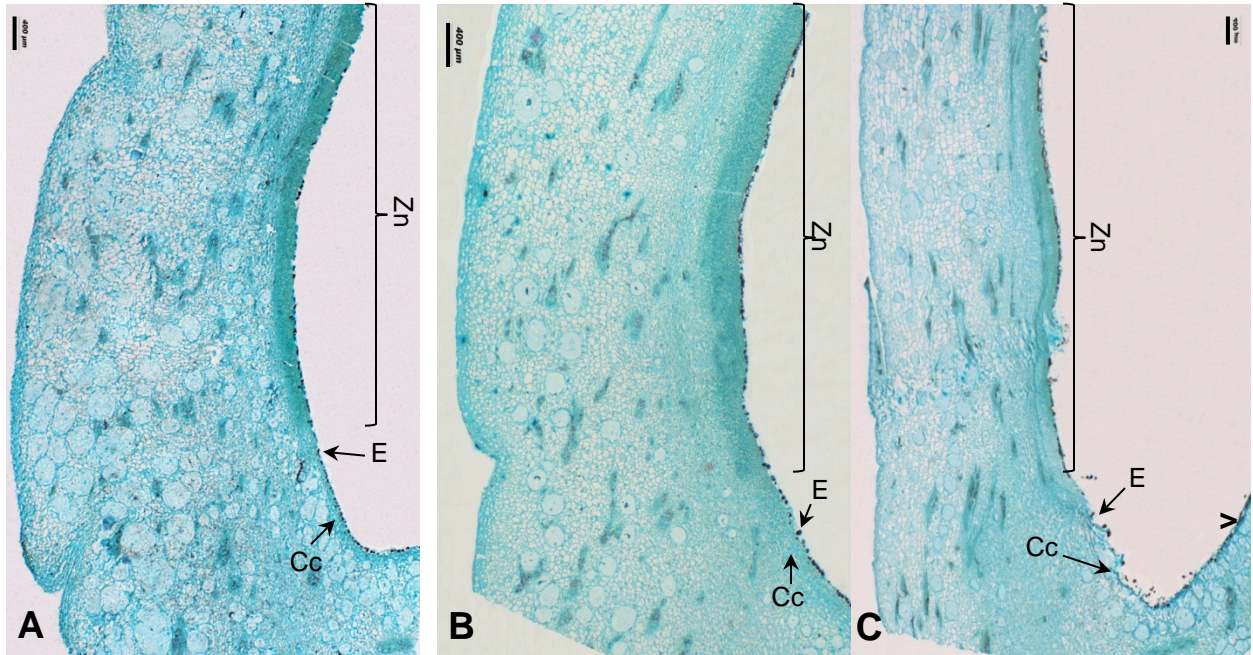


Figura 6. Cortes longitudinales de la cámara nectarial en las especies parentales y el híbrido. A. *Neobuxbaumia tetezo*, B. Híbrido, C. *Cephalocereus columna-trajani*. Ovario hacia la parte inferior, androceo hacia la parte superior de las imágenes. Zn= Zona secretora, >= estilo, E= epidermis interna, Cc= células colenquimatosas. Barra: 400 μm

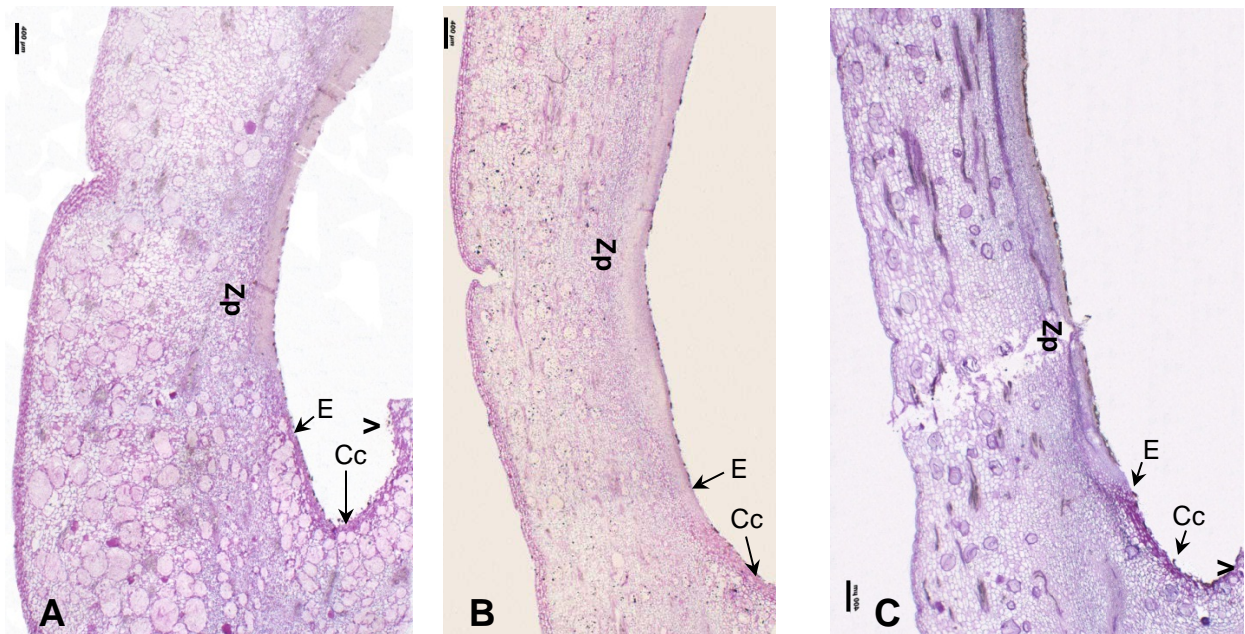


Figura 7. Cortes longitudinales de la cámara nectarial en especies parentales y el híbrido. Prueba histoquímica ácido peryódico-reactivo de Schiff. A. *Neobuxbaumia tetezo*, B. Híbrido, C. *Cephalocereus columna-trajani*. Ovario hacia la parte inferior, androceo hacia la parte superior de las imágenes. >= estilo, E= epidermis interna, Cc= células colenquimatosas, Zp= zona con presencia de polisacáridos insolubles. Barra= 400 μm.

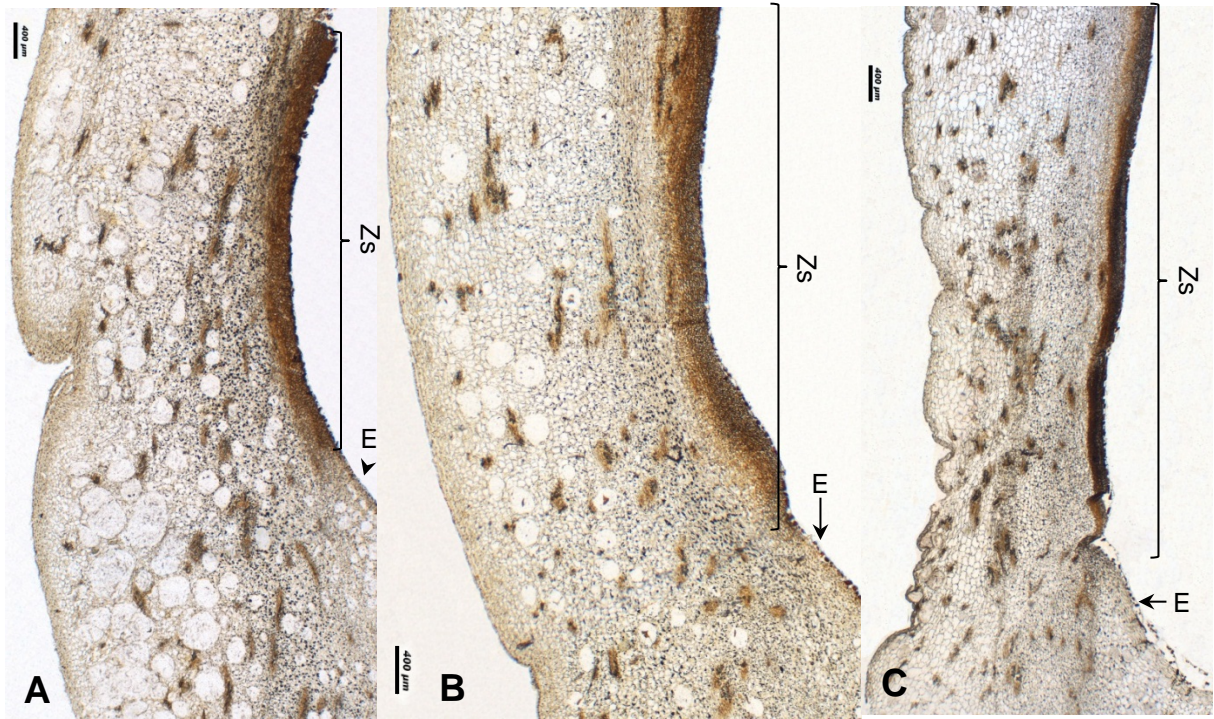


Figura 8. Cortes longitudinales de la cámara nectarial de las especies parentales y el híbrido, Prueba histoquímica lugol. A. *Neobuxbaumia tetexo*, B. Híbrido, C. *Cephalocereus columna-trajani*. Ovario hacia la parte inferior, androceo hacia la parte superior de las imágenes. E= epidermis interna, Zs= zona secretora. Barra= 400 μm.

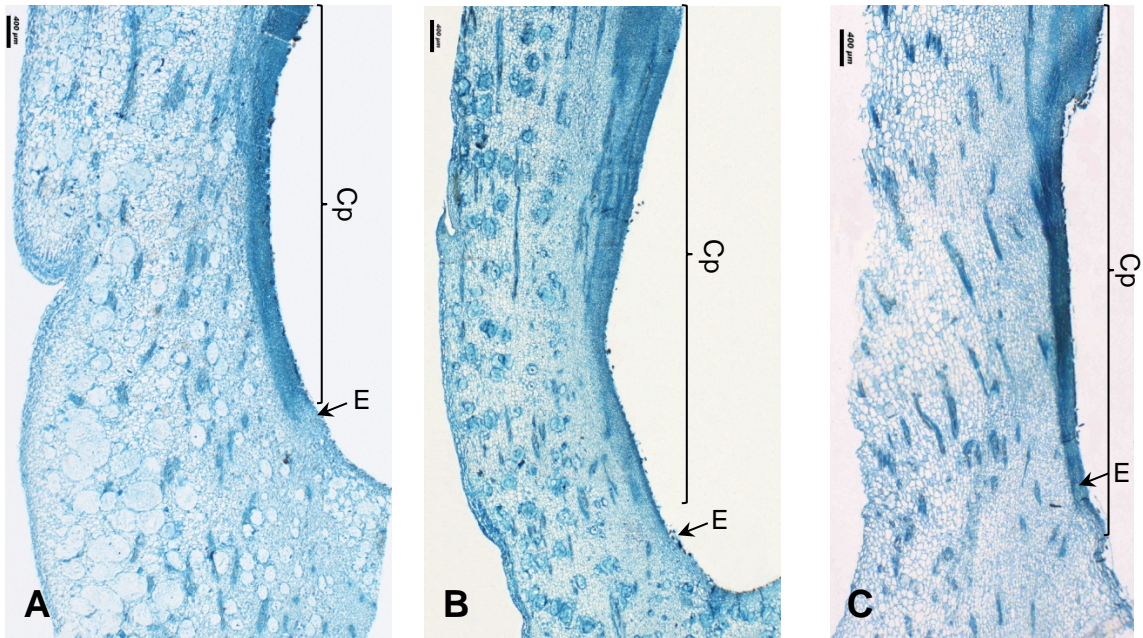


Figura 9. Cortes longitudinales de la cámara nectarial de las especies parentales y el híbrido, Prueba histoquímica azul-negro de naftol. A. *Neobuxbaumia tetexo*, B. Híbrido, C. *Cephalocereus columna-trajani*. Ovario hacia la parte inferior, androceo hacia la parte superior de las imágenes. Cp= células ricas en contenido proteico, E= epidermis interna. Barra= 400 μm.

Anatomía de los nectarios florales

El nectario en *Neobuxbaumia tetetzo* está compuesto por un epidermis de células isodiamétricas, con alto contenido en taninos, con paredes primarias delgadas (Figs. 12A, 13A, 14A). La cutícula presenta una ornamentación estriada y con presencia de formas conspicuas parecidas a ventosas (Figs. 14A y a).

En la epidermis se encuentran escasos estomas a lo largo de todo el tejido, con las células oclusivas arriñonadas, siendo éstos del tipo anisocítico, al encontrarse rodeados por tres células subsidiarias, por debajo de cada estoma se encuentra una cámara subestomática amplia (Figs. 13a y 14A, a). Se encontraron estomas asociados en pares como los mostrados en la Figura 15A.

Las células por debajo de la epidermis son secretoras. En *N. tetetzo* se presentan dos tipos celulares que varían en su morfología (Figs. 12A, a y 13A, a). El tipo celular uno, está caracterizado por células pequeñas, esféricas, con paredes primarias delgadas, con una vacuola que alcanza hasta la mitad del tamaño de las células, un citoplasma muy denso y un núcleo excéntrico muy conspicuo, y se encuentran en la zona más cercana a la epidermis, habiendo una alta cantidad de espacios intercelulares. Este tipo celular tiene un grosor de alrededor de 10 estratos. El segundo tipo celular, se caracteriza por presentar células de mayor tamaño que el primero, estas células son de forma cilíndrica, se encuentran organizadas de manera perpendicular a la epidermis, presentan paredes primarias delgadas, con el citoplasma denso, vacuolas conspicuas y con un núcleo representativo en ocasiones central o excéntrico. Se encuentra localizado adyacente al tejido vascular. Alcanza una profundidad de entre 8-9 estratos.

El tejido vascular está representado por vasos de xilema y floema cercanos, particularmente al segundo tipo celular, pero sin llegar a penetrar dentro del tejido secretor, organizados en haces de tipo colateral (Figs. 16A, a y 17A, a). El xilema está representado por elementos de vaso, la ornamentación de la pared secundaria es helicoidal y en el floema por otro lado, solo se pueden distinguir los elementos del tubo criboso y células anexas, con un citoplasma más teñido (Fig. 16A, a y 17A, a).

Cephalocereus columna-trajani presenta un nectario que tiene una epidermis lisa, compuesta por células rectangulares muy alargadas, con un contenido rico en taninos. La cutícula es corrugada y sin las formas presentes en *N. tetetzo*.

La epidermis también presenta estomas de tipo anisocítico al presentar tres células subsidiarias, las células oclusivas son arriñonadas y alargadas. La cámara subestomática es amplia, los estomas se encuentran en menor cantidad que en los otros dos taxa.

Por debajo de la epidermis se encuentra el tejido secretor, al igual que en *N. tetetzo* se observaron dos tipos celulares, diferentes en morfología (Figs. 12C, c y 13C, c). El primer tipo celular está caracterizado por células pequeñas, redondas, con pared primaria delgada,

con una vacuola que alcanza hasta la mitad del tamaño de las células, un citoplasma denso, un núcleo excéntrico y conspicuo. Este tejido se localiza inmediatamente por debajo de la epidermis, con una profundidad de entre 7-8 estratos celulares y el tejido presenta abundantes espacios intercelulares. El segundo tipo celular se encuentra representado por células de mayor tamaño, las células presentan forma cilíndrica o isodiamétrica, se encuentran dispuestas de forma paralela a la epidermis en corte longitudinal, también presentan paredes primarias delgadas, una vacuola prominente, un núcleo muy conspicuo céntrico o excéntrico. Este tipo celular se localiza adyacente al haz vascular y tiene una profundidad de entre 10-13 estratos celulares.

El tejido vascular está representado por xilema y floema, generalmente delimitado por el segundo tipo celular, pero en ocasiones adentrándose en éste, al igual que *N. tetetzo* el tipo de haz vascular es colateral (Figs. 16C, c y 17C, c).

Por último el nectario del híbrido presenta al igual que sus parentales una epidermis continua, lisa y compuesta por células rectangulares. Presentan abundantes taninos. Aunque la cutícula es corrugada y no presenta las formaciones que se encuentran en *N. tetetzo*. Su epidermis también presenta estomas, con células guarda arriñonadas, pero diferentes, sin células subsidiarias alrededor, por lo que son estomas de tipo anomocítico, la cámara subestomática es amplia (13B, b y 14B, b). En este taxa al igual que en *N. tetetzo* se presentan estomas en pares (15B).

Por debajo de la epidermis se encuentra el tejido secretor, solo se presenta un tipo celular, a diferencia de los parentales (Figs. 12 y 13). Las células del tejido secretor son pequeñas, redondas, con paredes primarias delgadas, con una vacuola grande, ocupando un gran espacio celular, el citoplasma es denso y el núcleo es muy conspicuo, generalmente es excéntrico, a veces céntrico. En la zona cercana a la epidermis se encuentran abundantes espacios intercelulares. La profundidad de este tejido es mayor a los 15 estratos celulares (Figs. 12B, b y 13B, b).

El tejido vascular se encuentra representado por xilema y floema generalmente rodeando al tejido secretor, pero en ocasiones penetrando a éste, al igual que en las especies parentales el tipo de haz vascular es colateral (Figs. 16B y 17B, b). El xilema y el floema es similar a lo encontrado en *N. tetetzo* y *C. columna-trajani*. El xilema presenta elementos de vaso con una ornamentación helicoidal, así como el floema es similar al presentar elementos de tubo criboso y células anexas bien diferenciadas (Figs. 16 B, b y 17 B, b).

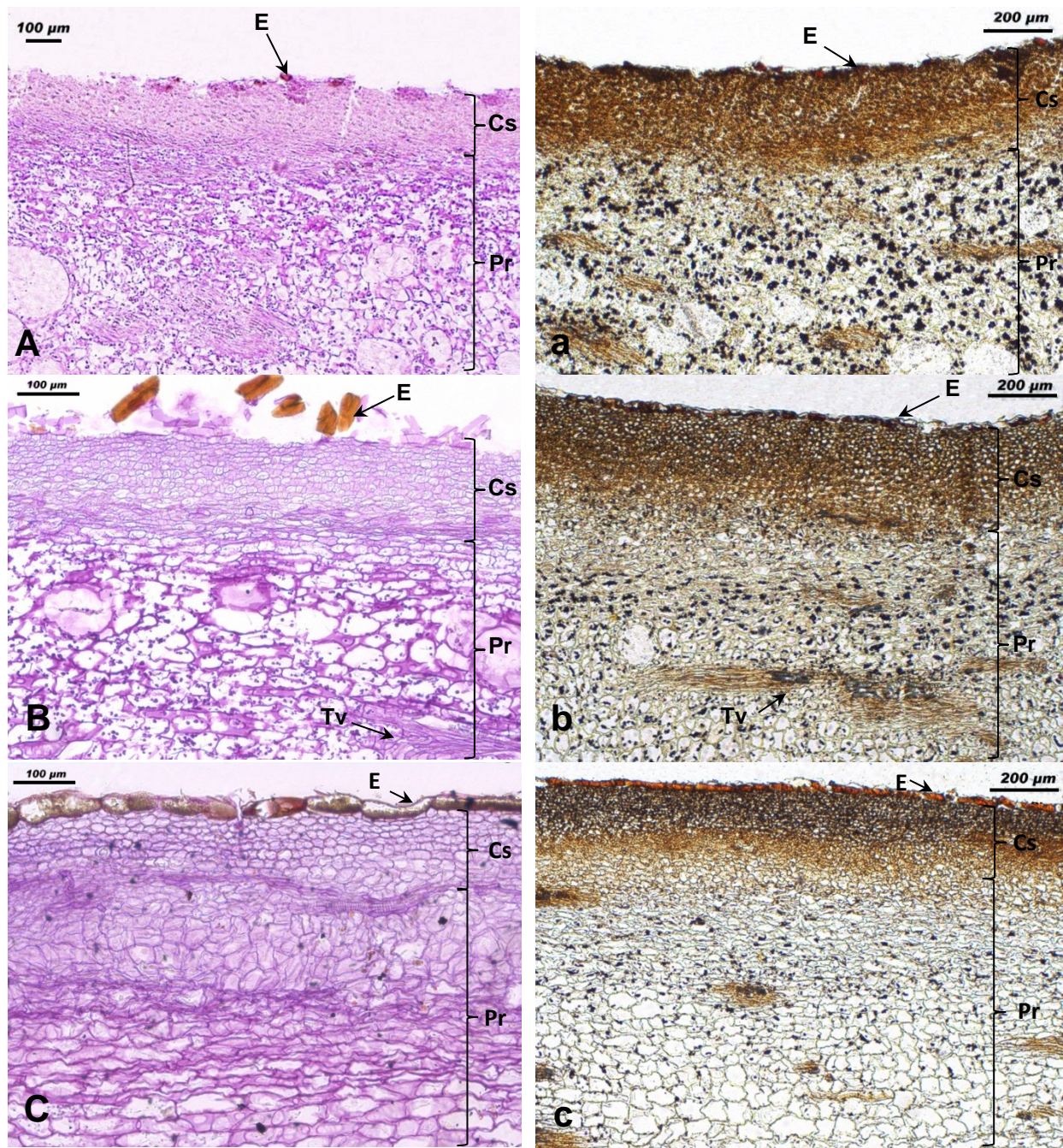


Figura 10. Pruebas histoquímicas del nectario en las especies parentales y el híbrido, tinción histoquímica de ácido peryódico-reactivo de Schiff (Izquierda) y lugol (derecha). *Neobuxbaumia tetetzo* (A y a), Híbrido (B y b) y *Cephalocereus-columna trajani* (C y c). Ovario hacia la parte derecha, androceo hacia la parte izquierda de las imágenes. E= epidermis, Cs= células secretoras, Pr= parénquima de reserva. Barra 100 μm (Izquierda) y 200 μm (Derecha).

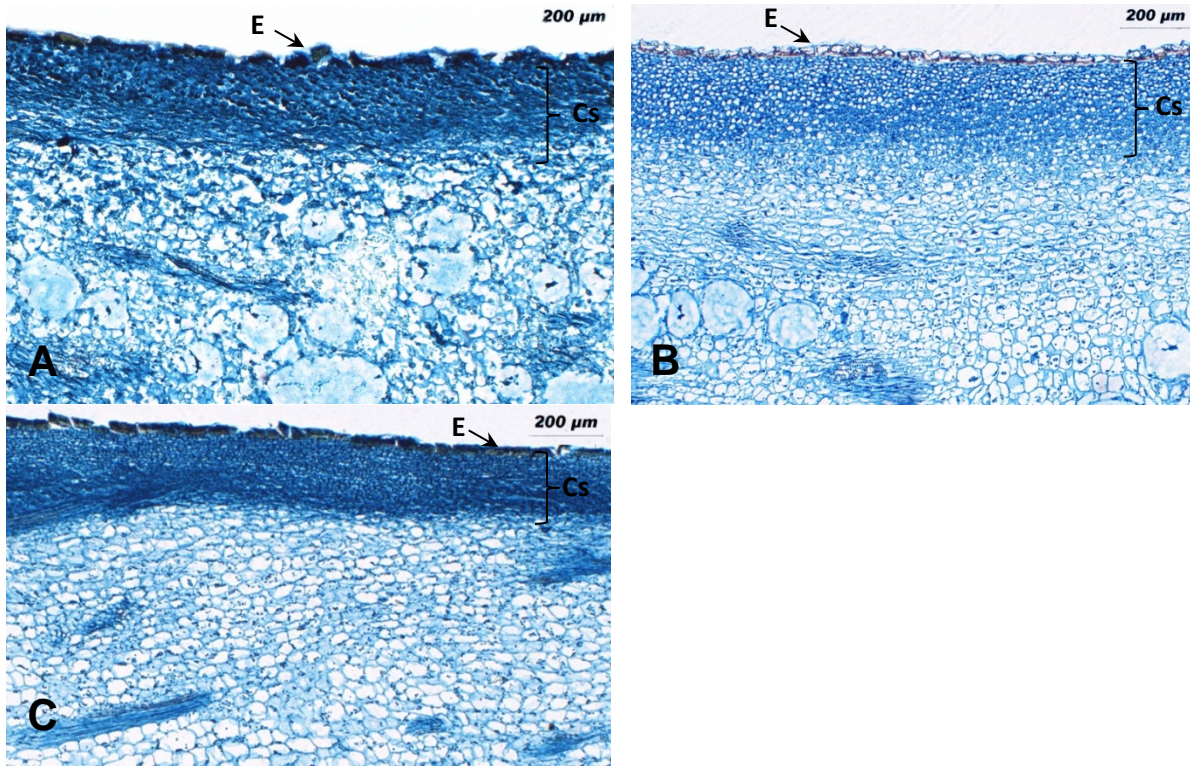


Figura 11. Cortes longitudinales de las especies parentales y el híbrido, prueba histoquímica de azul-negro de naftol. *Neobuxbaumia tetetzo* (A), Híbrido (B) y *Cephalocereus columna-trajani* (C). Ovario hacia la parte derecha, androceo hacia la parte izquierda de las imágenes. E= epidermis, Cs= células secretoras. Barra 200µm.

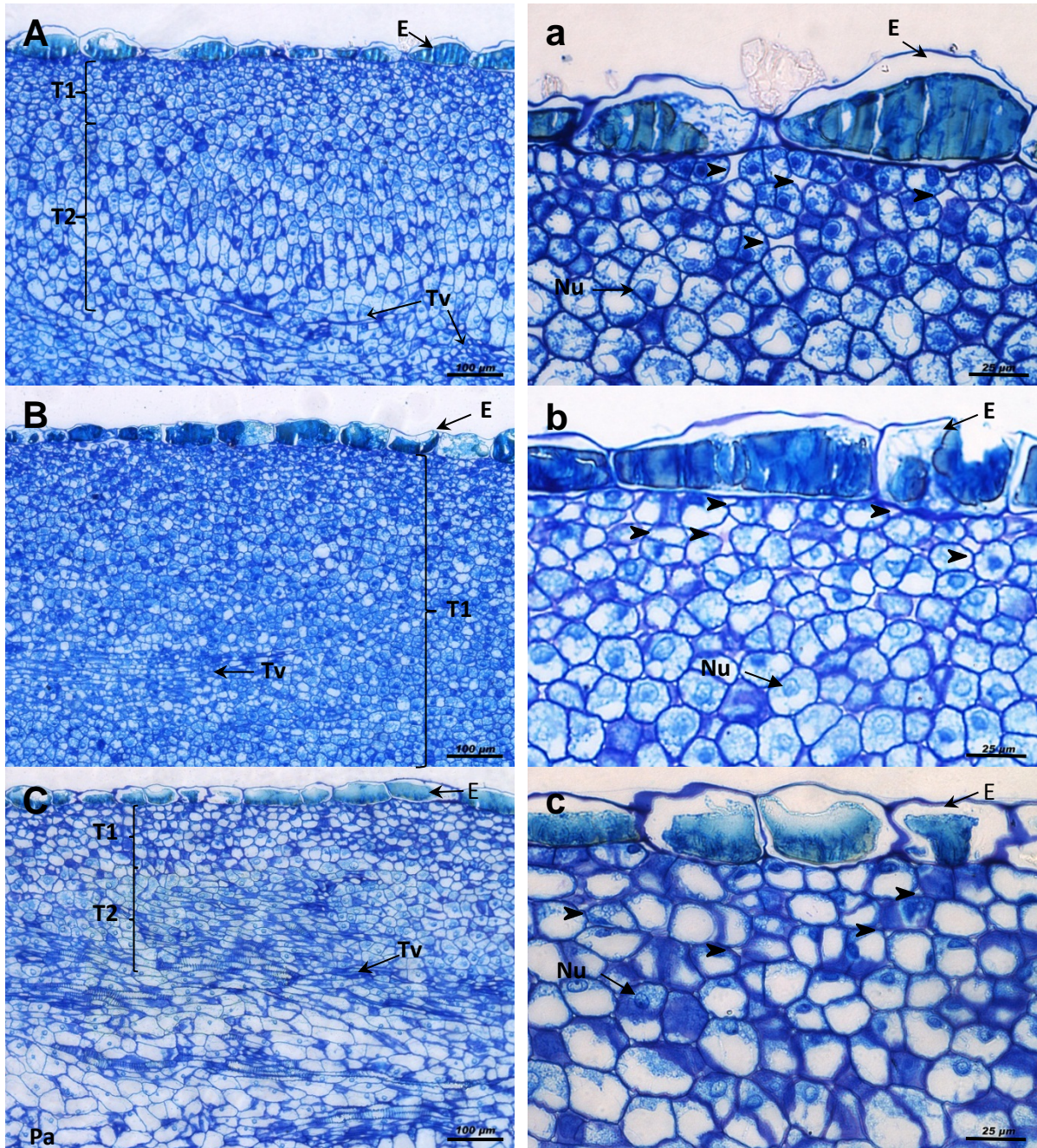


Figura 12. Cortes longitudinales de las cámaras nectaríferas de las especies parentales y el híbrido. A, a. *Neobuxbaumia tetetzo*; B, b. Híbrido; C, c. *Cephalocereus columna-trajani*. Columna derecha representa acercamientos al tejido nectarífero. E= epidermis, T1=Tipo celular 1 del nectario, T2= Tipo celular 2 del nectario, Pa= parénquima, Tv= tejido vascular, cabezas de flecha=espacios intercelulares, Nu= núcleo. Barra 100 μm (Izquierda), 25 μm (derecha).

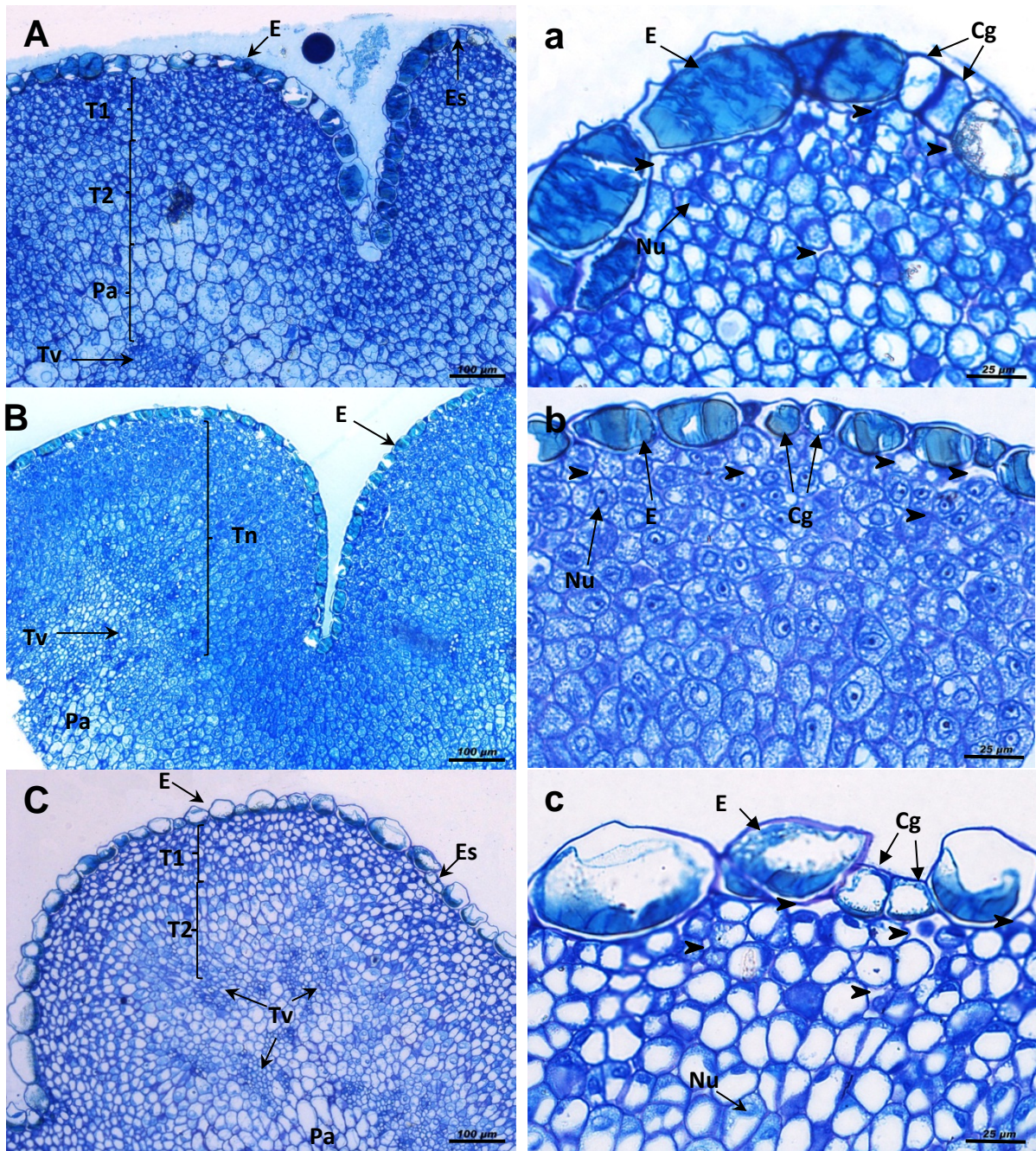


Figura 13. Cortes transversales de las cámaras nectaríferas de las especies parentales y el híbrido. A, a. *Neobuxbaumia tetetzo*; B, b. Híbrido; C, c. *Cephalocereus columna-trajani*. Minúsculas representan acercamientos al tejido nectarífero. E= epidermis, Es= estoma, Cg= células guarda, Tn= tejido nectarífero, T1=Tipo celular 1 del nectario, T2= Tipo celular 2 del nectario, Pa= parénquima, Tv= tejido vascular, cabezas de flecha=espacios intercelulares, Nu= núcleo. Barras 100 μm (Izquierda) y 25 μm (Derecha).

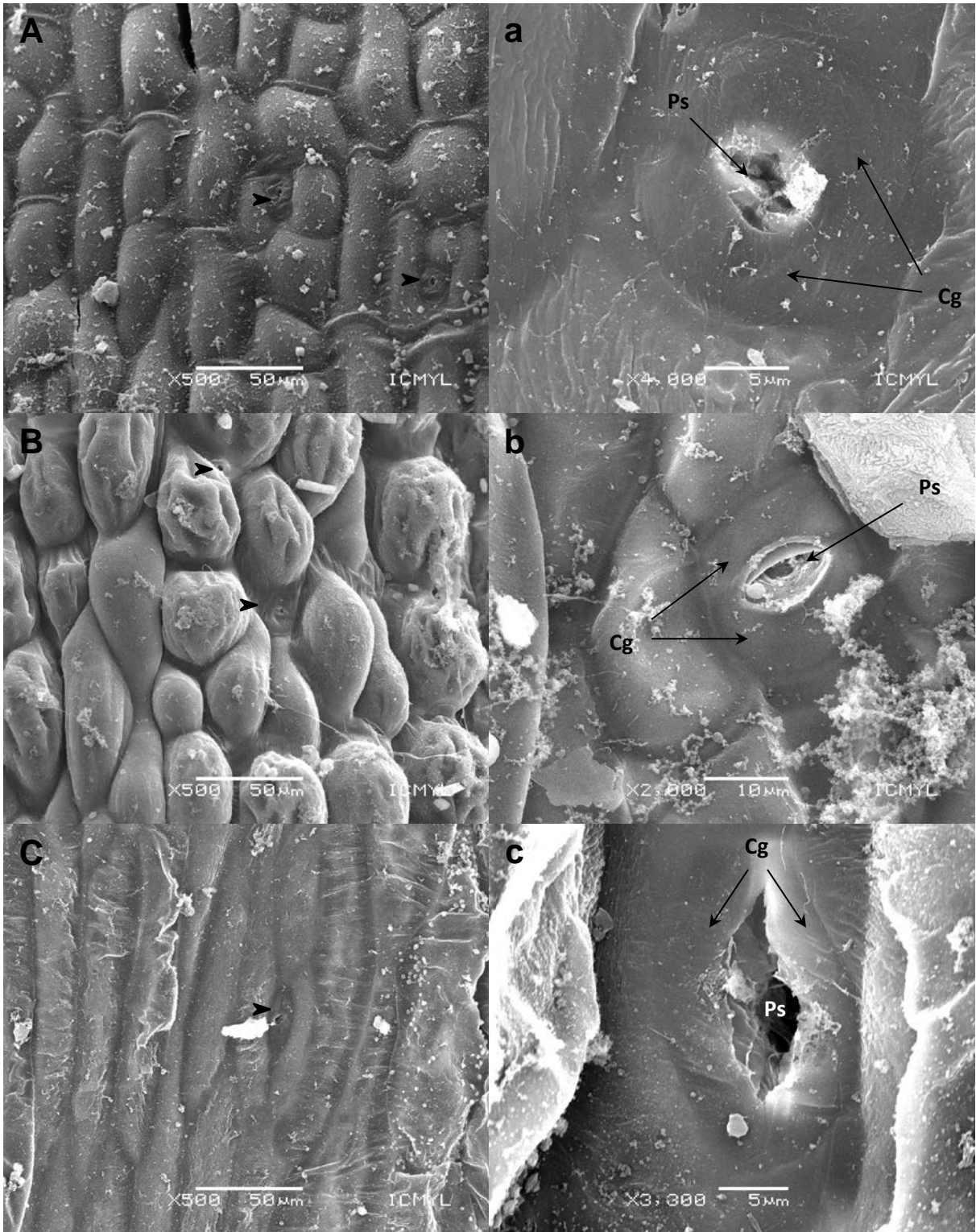


Figura 14. Micrografías de la epidermis en la región del nectario en las especies parentales y el híbrido. A, a. *Neobuxbaumia tetetzo*, B, b. Híbrido, C, c. *Cephalocereus columna-trajani*. Minúsculas representan acercamientos a los estomas, cabezas de flecha= estomas, Cg= células guarda, Ps= poro estomático..

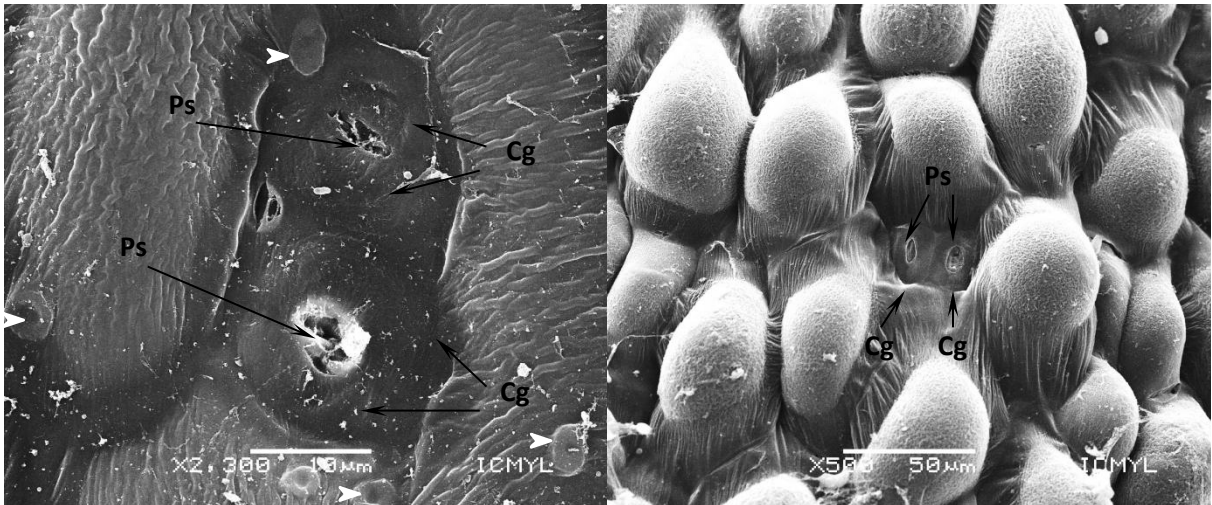


Figura 15. Estomas en pares en *Neobuxbaumia tetetzo* (A) e Híbrido (B). Cg= células guarda, Ps= poro estomático, cabezas de flecha blanca= formas características en cutícula.

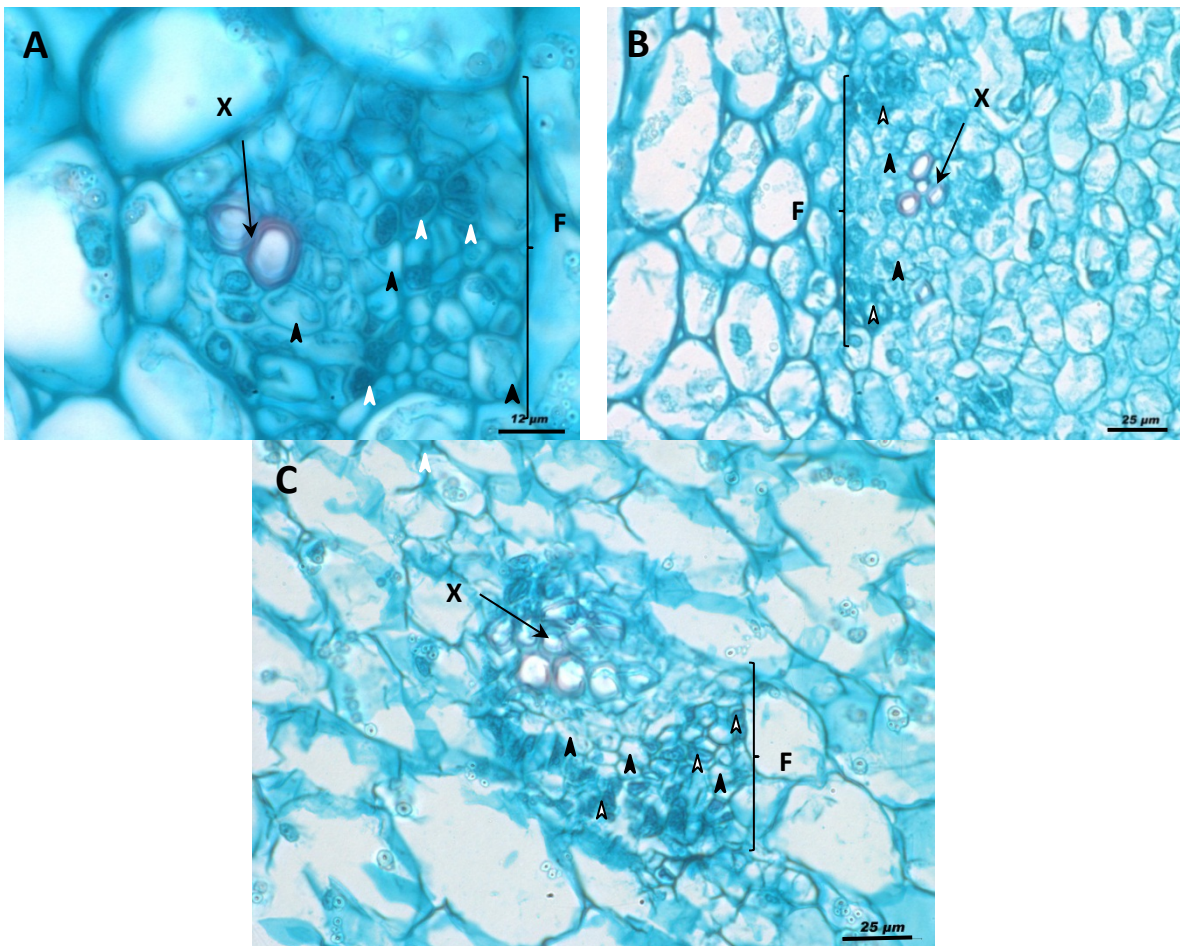


Figura 16. Cortes transversales de las especies parentales y el híbrido con énfasis en el tejido vascular. A. *Neobuxbaumia tetetzo*, B. Híbrido, C. *Cephalocereus columna-trajani*. X= xilema, F= floema, cabezas de flecha negras= tubos cribosos, cabezas de flecha blancas= células acompañantes.

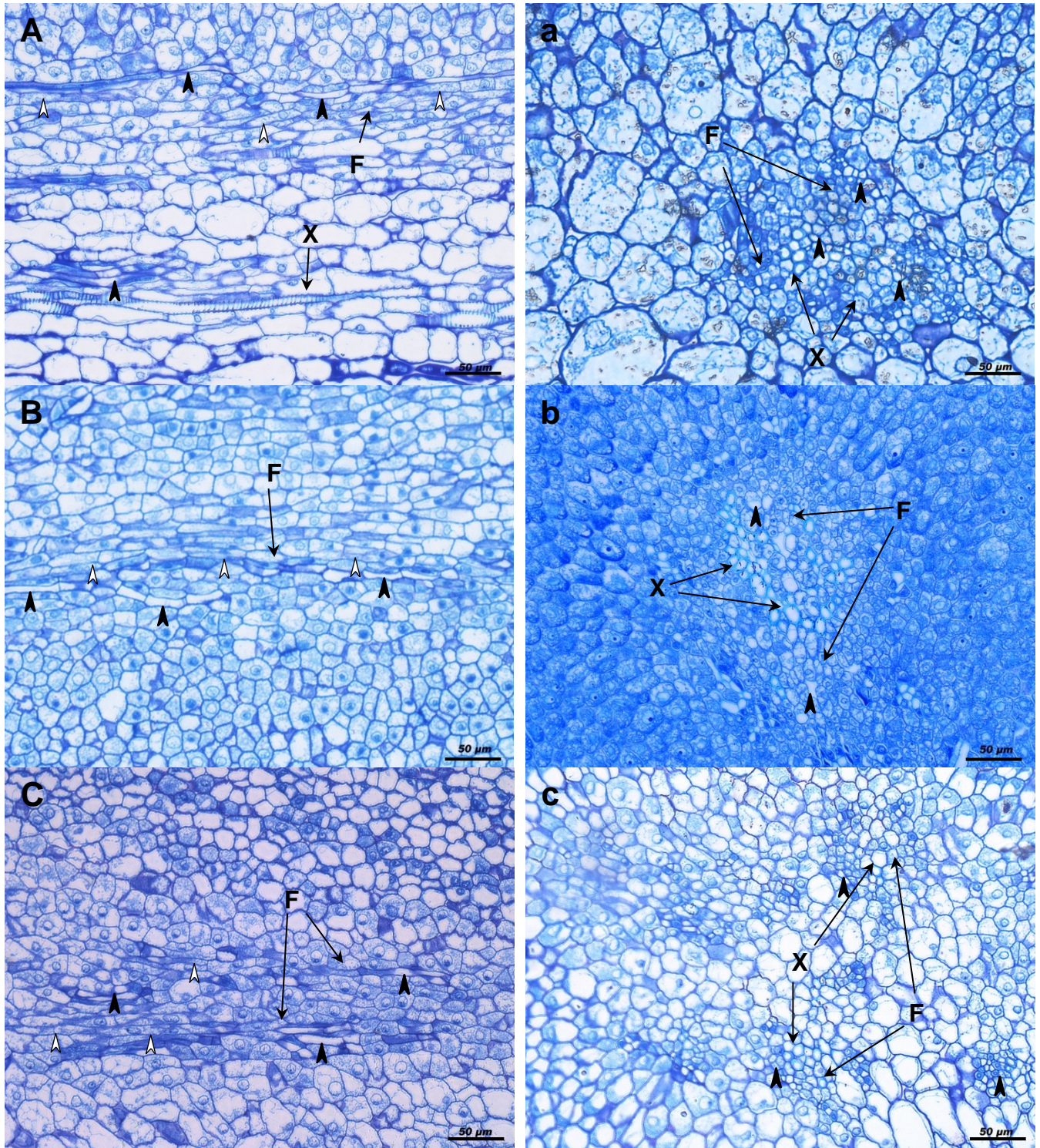


Figura 17. Cortes longitudinales y transversales de las especies parentales y el híbrido con énfasis en el tejido vascular. A, a. *Neobuxbaumia tetetzo*, B, b. Híbrido, C, c. *Cephalocereus columna-trajani*. Minúsculas representan acercamientos al tejido vascular cercano al tejido secretor. X= xilema, F= floema, V= vaso, cabezas de flecha negras= tubos cribosos, cabezas de flecha blancas= células acompañantes.

Néctar

El promedio de las mediciones de la cantidad de néctar en *N. tetetzo* fue 519.4 μl , en *C. columna-trajani* 330.6 μl y el híbrido fue de 458.4 μl . *Neobuxbaumia tetetzo* resultó con el mayor volumen de néctar, así como *C. columna-trajani* resultó con el menor volumen. El híbrido presentó un valor intermedio entre las dos especies parentales (Fig. 18, Tabla 4).

Respecto a los $^{\circ}\text{Brix}$ obtenidos, el néctar más concentrado se presenta en el híbrido (42.79 $^{\circ}\text{Brix}$), seguido de *N. tetetzo* y por último el menos concentrado es el de *C. columna-trajani*, con los datos obtenidos y con la ayuda de la fórmula para obtener la cantidad de energía, se obtuvo la calidad energética de cada néctar (Tabla 4).

En cuanto a la calidad del néctar, la mejor calidad la obtuvo el híbrido (3.917 kJ), así como la menor calidad *C. columna-trajani* (2.189 kJ, Tabla 4) contrastando con los datos de volumen.

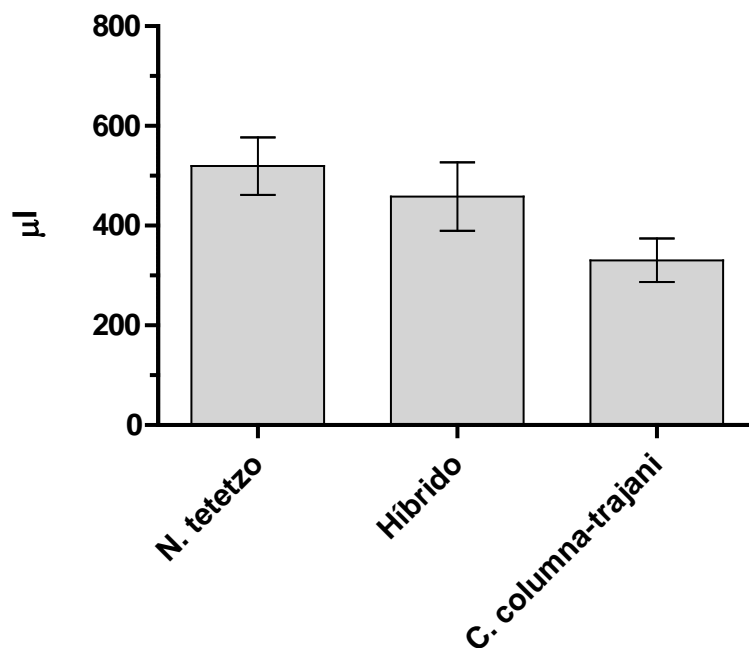


Figura 18. Volumen del néctar acumulado por flor en *N. tetetzo*, *C. columna-trajani* y su híbrido. Se muestra el error estándar por arriba de las columnas. Barras= error estándar.

Tabla 4. Promedio de $^{\circ}\text{Brix}$ obtenidos para el néctar y su conversión a Joules en las dos especies parentales y el híbrido.

	<i>Neobuxbaumia tetetzo</i>	Híbrido	<i>Cephalocereus columna-trajani</i>
$^{\circ}\text{Brix}$	35.45	42.79	34.33
Joules	3.583 kJ	3.917 kJ	2.189 kJ

Discusión

Las flores de *Neobuxbaumia tetetzo*, *Cephalocereus columna-trajani* y su híbrido, presentan una cámara nectarial en el tercio basal interior del tubo receptacular, dentro de esta cámara se resguarda el néctar en espera de que el polinizador lo obtenga. La cámara nectarial sucede así en casi todas las especies de la tribu Pachycereeae (Buxbaum, 1953; Gibson y Nobel, 1986, Fuentes-Pérez, 2004).

La única diferencia morfológica que presentan las diferentes cámaras nectariales, es el tipo de apertura, Buxbaum (1953) en su análisis del nectario en cactáceas determinó cinco tipos de aperturas: difusa, abierta, parcialmente-abierta, cerrada y las cubiertas por *lana*.

Cephalocereus columna-trajani presenta el tipo «parcialmente-abierta», descrito por Buxbaum (1953) y mencionada también por Terrazas y Loza –Cornejo (2002), observación confirmada en el presente trabajo.

La cámara nectarial de *Neobuxbaumia tetetzo* y el híbrido, son iguales en cuanto al tipo de apertura. Presentan una apertura de tipo «cerrado», es decir en la apertura de la cámara nectarial los estambres se fusionan de tal manera que se forma un diafragma, dificultando la entrada o salida a la cámara, el mismo Buxbaum (1953) lo reconoció como un subtipo de apertura «cerrada», dándole el nombre de tipo *Neobuxbaumia*, utilizando como sujeto de estudio a *N. polylopha*. Aunque no todas las especies del género *Neobuxbaumia* presentan el tipo cerrado descrito para *N. polylopha*, puesto que *N. mezcalensis* presenta el tipo de apertura abierta (Fuentes-Pérez, 2004).

Dentro de la cámara nectarial se encuentra el nectario, difiriendo en su disposición a lo largo de la pared de esta cámara en los tres taxa, donde la mayor área secretora la presenta *C. columna trajani*. Los nectarios de *N. tetetzo*, *C. columna-trajani* y el híbrido, según la clasificación de Delpino (1873, citado por Schmid, 1988) formarían parte del tipo nupcial intrafloral, por estar relacionados completamente con la reproducción, además de encontrarse al interior de la flor, clasificación redundante en éste sentido.

De manera amplia, los nectarios se habían clasificado hasta hace poco tiempo, simplemente en nectarios de disco y nectarios septales, los primeros exclusivos de las dicotiledóneas y los segundos de monocotiledóneas (Rudall *et al.*, 2003), siendo un enfoque diferente a los propuesto por Buxbaum (1953) para cactáceas. Los nectarios de las especies tratadas y el híbrido se encuentran al igual que otras dicotiledóneas, dentro de los nectarios de disco, formando un anillo. Como ejemplos dentro de la familia Cactaceae tenemos a *Pereskia lychnidiflora*, *Opuntia tomentosa*, *Mammillaria san-angelensis* (Montero, 2004), *Polaskia chende*, *Polaskia chichiye* y *Stenocereus quevedonis* (Gudiño, 2012). La mayoría de los trabajos reportados presentan esta clasificación tan general, siendo entonces un carácter de poco valor taxonómico a niveles más específicos como orden o familia.

Con la clasificación propuesta por Schmid (1988), se le asigna una división más detallada y más puntal a los tipos de nectario, asociándolos a diferentes regiones, no sólo dentro de la flor y a cada parte dentro de ella, sino cualquier parte que englobe a este órgano reproductor, llamado flor.

Siendo así, entonces, el nectario de *Neobuxbaumia tetetzo*, *Cephalocereus columna-trajani* y su híbrido es de tipo hipantial, es decir se encuentra asociado a la región del hipantio, definiéndolo como la región de la flor donde se fusionan los filamentos de los estambres con los demás verticilos florales no reproductores (Barthlott y Hunt, 1993; Valencia *et al.*, 2012), es decir la cámara nectarial es parte del hipantio y en la pared de la cámara se encuentra la región secretora.

La zona secretora o nectario se encuentra exclusivamente en la pared de la cámara nectarial y en el fondo de ésta se encuentran varios estratos celulares de colénquima. Al colénquima se le han conferido funciones mecánicas, al ser un tejido plástico y resistente (Evert, 2006; Azcárraga *et al.*, 2010). Probablemente su función al fondo de la cámara nectarial de los tres taxa pueda ser ofrecer protección a la estructura que se encuentra por debajo de ésta, es decir el ovario.

La epidermis de los nectarios en los tres taxa es característica en los tres taxa al orientarse las células de manera anticlinal, con una vacuola de gran tamaño representativa típica de los nectarios (Fahn, 1979 a, b; 1988, 1998; Nepi, 2007) con ausencia de otros plastidios, la vacuola en este caso ocupa casi todo el volumen celular y en su interior hay abundantes taninos.

Los taninos son producto del metabolismo secundario de las plantas, se les ha conferido varias funciones principalmente como protección contra la herbivoría, por sus propiedades de precipitación de proteínas, inhibiendo por lo tanto enzimas y se les conoce también por sus propiedades antimicrobianas (Swain, 1977; Harborne, 1984, 1994). La presencia de estos compuestos en la epidermis de la cámara nectarial podría estar relacionada a sus propiedades antimicrobianas, ya que el néctar podría funcionar como un “caldo de cultivo” perfecto para el crecimiento de microorganismos, entonces evitando que entren al tejido de la planta, previniendo su infección.

La presencia de taninos en la epidermis del nectario también ha sido reportada en otras especies de cactáceas columnares varias especies de la tribu Pachycereeae, como *Escontria chiotilla*, *Neobuxbaumia mezcalensis*, *Stenocereus pruinosus* entre otras (Fuentes-Pérez, 2004).

Hay presencia de una cutícula, con diferentes ornamentaciones, que en el caso de *N. tetetzo* es estriada y en *C. columna-trajani* es corrugada al igual que en el híbrido, sólo *N. tetetzo* presenta estructuras similares a ventosas a lo largo de la cutícula, este carácter, a reserva de un estudio a mayor detalle, podría ser característico de la especie, ya que no se encontraron reportadas en otras especies de la tribu.

La secreción del néctar se da por estomas modificados siendo la forma más común de secreción del néctar. Al no poder regular su apertura y cierre, se les asigna el nombre de nectarostomas (Nepi, 2007). Se encuentran asociados a una cámara subestomática amplia y a numerosos espacios intercelulares por debajo de ellos, sugiriendo que liberan el néctar a estos espacios, para que posteriormente el néctar salga por los nectarostomas hacia la cámara nectarial. Fahn (1998) menciona a los “estomas” como una vía posible de liberación de néctar en todas las angiospermas.

Petanidou *et al.* (2000), Bernardello, (2007) y Petanidou (2007) sugieren que la secreción por estomas se encuentra relacionada con un néctar más concentrado y con ambientes áridos, relacionando su ausencia con un néctar más diluido. *N. tetetzo*, *C. columna-trajani* y el híbrido, se encuentran en un clima árido, por lo que sería esperable que secreten néctar concentrado necesario para los murciélagos.

En los nectarios de *N. tetetzo* y *C. columna-trajani*, los estomas son de tipo anisocítico. La presencia de células subsidiarias, resulta interesante ya que estas son conocidas por su relación con el cierre estomático, fenómeno que no es necesario en los nectarostomas, al no regular su apertura y cierre del ostiolo (Nepi, 2007), como lo comprobaron Gaffal *et al.*, (2007) en *Digitalis purpurea* (Plantaginaceae). La presencia de células subsidiarias podría sugerir la funcionalidad de estos estomas en un momento más temprano en el desarrollo, dejando de ser funcionales al inicio de la antesis.

Estomas anomocíticos, como los presentes en el híbrido, se han encontrado en los nectarios de otras especies de angiospermas como *Melissa officinalis* (Lamiaceae; Chwil, 2009) y en cactáceas como en *Rhipsalis teres* (García de Almeida *et al.*, 2010), probablemente en el proceso de hibridación se pudieron haber perdido las células subsidiarias descritas en los taxa parentales.

La presencia de estomas en pares como en *N. tetetzo* y en el híbrido, es un fenómeno no muy reportado en las angiospermas, se ha descrito en pocas especies por ejemplo en *Lythrum salicaria* (Lythraceae; Caswell y Davis, 2011), pero no en la familia Cactaceae.

Dentro de la familia Cactaceae las pocas especies que se han estudiado presentan estomas como forma de secreción del néctar por ejemplo *Pereskia lychnidiflora* (presenta además poros), *Opuntia tomentosa* y *Mammillaria san-angelensis* (Montero, 2004), *Escontria chiotilla*, *Myrtillocactus geometrizans*, *Lophocereus schotti*, *Neobuxbaumia mezcalaensis*, *Pachycereus pecten-aboriginum*, *Stenocereus pruinosus* (Fuentes-Pérez, 2004), *Stenocereus quevedonis* (Gudiño, 2012), aunque hay excepciones como *Polaskia chende*, que secreta el néctar por fisuras de la cutícula, *P. chichipe*, que lo secreta por poros (Gudiño, 2012), indicándonos que la presencia de estomas en los nectarios no es único en la familia, y contrastante en algunos miembros de Pachycereeae.

En cuanto al tejido secretor, las características observadas como el tamaño y forma, tamaño del núcleo y de la vacuola son atributos ampliamente reportados en los nectarios

de las angiospermas (Fahn, 1979, 1988, 1998; Nepi, 2007), como ejemplos tenemos a *Helleboerus foetidus* y *H. bocconeii* (Vesprini *et al.*, 1999), o más específicamente en cactáceas como *Pereskia lychnidiflora*, *Opuntia tomentosa*, *Mammillaria san-angelensis* (Montero, 2004), *Rhipsalis teres* (García de Almeida *et al.*, 2012), *Polaskia chichiye*, *P. chende* y *Stenocereus quevedonis* (Gudiño, 2012). Observando el tamaño de las vacuolas y la amplia cantidad de espacios intercelulares en las dos especies parentales y el híbrido, podemos decir que el tejido se encontraba en un estado activo de secreción al momento de la colecta y que debido a estas características celulares la secreción es merócrina, es decir no se necesita de la muerte celular para la secreción, como en el tipo holócrino (Fahn 1979; Nepi, 2007). La amplia presencia de proteínas indicada por la prueba histoquímica de azul negro de naftol, da cuenta de la intensa actividad celular que tienen con el fin de producir néctar, por ejemplo proteínas necesarias para la ruptura del almidón serían necesarias.

Una ausencia de grandes cantidades de almidón o de polisacáridos insolubles en estas células puede deberse a dos causas, uno es que éstas células no almacenan carbohidratos de gran peso molecular en ningún momento del desarrollo o que los carbohidratos ya fueron degradados al momento de iniciar la antesis o momentos antes, como se ha demostrado en *Nicotiana langsdorffii* X *N. sanderae* (Solanaceae; Horner *et al.*, 2007), en la orquídea *Platanthera chlorantha* (Stpiczynska *et al.*, 2005) y en *Passiflora* sp. (Passifloraceae; Durkee *et al.*, 1981). Desafortunadamente no se cuentan estudios de este tipo en la familia Cactaceae.

Tampoco se encontraron cristales en el tejido secretor, como se ha reportado en otras cactáceas como *Opuntia tomentosa* (Montero, 2004), *Polaskia chichiye* (Fuentes-Pérez, 2004) y *Stenocereus quevedonis* (Gudiño, 2012).

En el caso de las especies parentales se observaron dos tipos celulares, esto ha sido reportado en el trabajo de Fuentes-Pérez (2004) sobre la anatomía de los verticilos florales en Pachycereeae, aunque solo lo reporta para *Neobuxbaumia mezcalaensis*, siendo en esta especie el tipo celular I caracterizado por la presencia de taninos. El tipo celular I, que es en donde se encuentran la mayor cantidad de espacios intercelulares, podría ser el encargado exclusivo de liberarlo a estos espacios, almacenándose en esa región que se comunica a su vez con los nectarostomas para su liberación a la cámara nectarífera, en cambio el tipo celular II podría fungir como una comunicación directa con el tejido vascular y con el parénquima de reserva, siendo fuentes de nutrientes para el néctar, a fin de comenzar y dividir la labor de producción de néctar desde esa zona.

En cambio en el híbrido la presencia de un solo tipo celular y en grandes cantidades, supone que la comunicación entre el tejido vascular y el parénquima de reserva con las células secretoras, así como las funciones propias de la secreción, se llevan a cabo de manera más directa, obteniendo un néctar con mejor calidad energética que el de las especies parentales. La presencia de más capas celulares dedicadas a la producción de néctar y su probable mejor calidad de esta recompensa, hace pensar que existe una

competencia fuerte con sus especies parentales. Para llegar a conclusiones definitivas sobre la fisiología de estos tipos celulares secretores se necesitan estudios más detallados y finos sobre las características micromorfológicas y moleculares del nectario.

La presencia de un parénquima de almacenamiento por debajo del tejido secretor se ha detectado en otras especies como por ejemplo en *Aloe castanea* (Xanthorrhoeaceae; Nepi *et al.*, 2006) y en cactáceas como *Opuntia tomentosa* (Montero, 2004) relacionándose con la formación de néctar. Bourquez y Corbet (1991) lo relacionan principalmente con flores nocturnas, ya que por lo general los azúcares del néctar se obtienen a partir de la fotosíntesis y se transportan vía tejido vascular.

Hablando de la posición del tejido vascular, se encuentra como lo menciona Nepi (2007) exclusivamente asociada al parénquima sub-nectarial, un tejido de células más grandes que las secretoras, un citoplasma menos denso y con espacios intercelulares no tan numerosos. El tejido secretor se encuentra flanqueado por haces vasculares, este tejido se encuentra compuesto por floema y xilema. Las células de xilema presentan una ornamentación de tipo helicoidal en los tres taxa.

La presencia de floema y xilema es relevante ya que hay miembros de otras familias de angiospermas que solo presentan floema asociado al nectario floral, como en Cucurbitaceae, Brassicaceae, Passifloraceae, Bignoniaceae o Fabaceae (Durkee *et al.*, 1981; Nepi, 2007), por otro lado cobra relevancia al momento de hablar de la fisiología del nectario, ya que el néctar no sólo está compuesto por carbohidratos sino también por proteínas, aminoácidos, minerales, entre otras sustancias. La presencia o ausencia de tejido vascular ha sido muy debatida y se ha postulado que puede haber presencia solamente de floema o de xilema o de ambos, o bien la ausencia de un tejido vascular cercano (Fahn, 1979b, 1988, 1998). La presencia de xilema y floema se ha reportado en diversas especies como *Aloe castanea*, *A. greatheadii* (Xanthorrhoeaceae; Nepi *et al.*, 2006) por mencionar algunas otras plantas suculentas y en Cactaceae (Pachycereae) se ha reportado en *Polaskia chende*, *P.chichipe* y *Stenocereus quevedonis* (Gudiño, 2012).

El tejido de reserva con abundantes polisacáridos y la presencia de floema y xilema, nos sugiere que el tejido vascular y el de reserva están totalmente involucrados en la presencia de carbohidratos, necesarios para alcanzar las concentraciones de azúcares presentes en el volumen de néctar, además el xilema proporcionando la cantidad de agua necesaria para este volumen y el floema proporcionando otras sustancias como los aminoácidos y proteínas (Pacini y Nepi, 2007).

Con todas las características anatómicas anteriormente mencionadas y discutidas se puede decir que los nectarios de los taxa tratados son de tipo mesofilar (Vogel, 1977), debido a que presentan una epidermis lisa, es decir sin tricomas o pubescencias y por debajo de ésta un tejido exclusivamente secretor, con abundantes espacios intercelulares y esto asociado a los estomas no funcionales de la epidermis, esta clasificación a diferencia de las demás tratadas en este trabajo es meramente estructural. Este tipo de nectario se ha reportado en

las cactáceas *Rhipsalis teres* (García de Almeida *et al.*, 2012), *Pereskia lychnidiflora*, *Opuntia tomentosa* y *Mammillaria san-angelensis* (Montero, 2004), lo que podría darnos una idea de que a lo largo de la familia probablemente los nectarios florales son de este tipo.

Es contrastante que la morfología floral del híbrido sea más parecida a *N. tetetzo*, en cuanto al pericarpelo y el tubo receptacular, aunado al tipo de apertura de la cámara nectarífera y a la presencia de estomas en pares, pero con características del polen más parecidas a *C. columna-trajani* (Merino, 2010).

En cuanto al néctar, las características estudiadas arrojaron resultados interesantes. El mayor volumen acumulado lo presentó *N. tetetzo*, así como el menor lo presentó *C. columna-trajani*, dejando al híbrido en un valor intermedio entre estas dos especies.

N. tetetzo presentó el mayor valor de volumen, 0.51 ml similar a lo reportado por Santos (2002) de 0.56 ml y Valiente-Banuet *et al.* (1996) de 0.68 ml, aunque otras especies del género *Neobuxbaumia* presentan valores por arriba de 1 ml (Santos, 2002). *C. columna-trajani* presenta el valor más bajo con 0.33 ml, casi un tercio de lo reportado por Santos (2002) de 1.16 ml. El híbrido presenta un valor intermedio de 0.45 ml, aunque se observa que tiende a ser cercano a *N. tetetzo*.

Lo anterior no resulta extraño, ya que existen varias especies de cactáceas columnares polinizadas por murciélagos, que secretan menos de 1.0 ml de néctar, tal es el caso de *Stenocereus stellatus*, *Pachycereus hollianus* y *P. crysacanthus*, en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Santos, 2002) y de *Carnegiea gigantea*, *Stenocereus thurberi*, *S. griseus*, *S. pruinusosus*, *Pachycereus pringlei* y *P. weberi*, en otras regiones (Santos, 2006).

Es interesante que en este caso, el volumen no esté relacionado con la concentración y la calidad del néctar. *N. tetetzo* y *C. columna-trajani* presentan un valor de concentración mayor que lo reportado anteriormente por Valiente-Banuet *et al.* (1996) y Santos (2002), al igual que en otras cactáceas columnares (Santos, 2006; Gudiño, 2011). De la misma manera *N. tetetzo* sobrepasa el valor energético reportado por Santos (2002) de alrededor de 2 kJ y *C. columna-trajani* menor que lo descrito por esta autora, rondando los 4 kJ. Aunque Horner *et al.* (2008) y Santos (2006) reportan valores energéticos más elevados para otras cactáceas columnares.

La temporada de floración de estas especies en 2012 fue muy corta y se produjeron pocas flores, lo que aunado a la complejidad del terreno donde se encuentran, la altura de los individuos y la localización de las flores en el ápice del tallo, hizo casi imposible obtener una muestra ampliamente representativa, haciendo difícil la interpretación de los resultados de néctar. Por lo cual, en el caso de *C. columna-trajani*, el número de muestra pudo afectar los resultados, indicando un menor volumen, concentración y calidad, contrario a *N. tetetzo*, el híbrido y lo reportado por Santos (2002), quedando entonces en la espera de una nueva colecta, poniendo énfasis en el número de muestra, robusteciendo así nuestros resultados.

El híbrido presenta un valor intermedio en cuanto a volumen, aunque tiene la mayor concentración de sacarosa, por consiguiente sería el néctar con mayor viscosidad, y el de mejor calidad, podríamos pensar que compite directamente con *N. tetetzo* (mayor volumen) ya que morfológicamente son los más similares.

Al igual que en las características morfológicas (Vite *et al.*, 1996; Merino, 2011) este híbrido presenta valores intermedios en cuanto al volumen del néctar, estados intermedios son característicos en otros híbridos de cactáceas columnares (Moran, 1962a; Moran, 1962b; Arias y Terrazas, 2008) y en otras cactáceas (Pinkava, 2002; Machado, 2008).

Las causas probables de la existencia de una población híbrida entre las cactáceas columnares *N. tetetzo* y *C. columna-trajani* son: la cercanía filogenética (Barba, 2009 y 2012), las altas tasas de diversificación (Magallón y Sanderson, 2001; Barba, 2009, 2012), es decir una gran riqueza de especies surgidas en corto tiempo, así como su ubicación geográfica en una zona de diversificación (Dávila-Aranda *et al.*, 2002). Aunado a la probable ausencia de barreras reproductivas (Ochoa, 2012), el solapamiento de las poblaciones y de las fenologías florales (Valiente-Banuet *et al.*, 1996; Vite *et al.*, 1996) y los polinizadores en común como *Leptonycteris curasoae* (Valiente-Banuet *et al.*, 1996).

Podría pensarse, que la cercanía fenotípica entre *N. tetetzo* y el híbrido, se debe a la probable introgresión siendo los óvulos del híbrido mayormente fecundados por polen de *N. tetetzo*, contribuyendo a la formación de una progenie de retrocruza (Grant, 1989; Campbell y Aldridge, 2007). Debido a la longevidad de estas especies, no se han encontrado reportes de qué nivel ha alcanzado la hibridación, es decir si los individuos analizados pertenecen a la F1 o a alguna generación posterior.

Una progenie de retrocruza, comparada con individuos que presenten fenotipos *nuevos*, podría tener éxito y establecerse, ya que comparte una similitud mayor con alguno de los progenitores ya establecidos en tales condiciones ambientales (Grant, 1989), tan es así que los individuos híbridos reportados en campo, presentan alturas considerables, reflejo de su longevidad.

La polinización por la misma especie de murciélagos y la presencia de un híbrido podría servir como un puente entre las débiles barreras reproductivas de *N. tetetzo* y *C. columna-trajani*, contribuyendo al fenómeno de introgresión, entendida como la *contaminación* del pool genético de una especie por genes de otra especie, favorecidas por una retrocruza de los individuos híbridos con alguna especie parental. Si la introgresión existe podría llevar a dos escenarios: uno, el más optimista, aumentando la variabilidad genética de *N. tetetzo* o por en el otro extremo, reemplazando a la especie original, es decir *N. tetetzo* (Machado, 2008). Evento aún no evaluado en estas especies, pero de importancia por sus consecuencias genéticas y evolutivas, como ya se mencionó.

Por lo que suponemos que los murciélagos juegan un papel importante en propiciar el fenómeno de hibridación. *Leptonycteris curasoae*, el principal murciélago reportado como

polinizador de *N. tetetzo*, se encuentra reportado también para otras cactáceas columnares con el síndrome quiropterófilo (Molina-Freaner *et al.*, 2004; Dar *et al.*, 2006; Ibarra-Cerdeña *et al.*, 2006), por lo que el movimiento de polen entre especies puede ser muy alto, aumentando la posibilidad de la formación de híbridos.

Se ha demostrado que es necesaria la presencia del polinizador y de una polinización cruzada en el híbrido para la producción de frutos, ya que son autoincompatibles (Ochoa, 2012). No solo en el híbrido, sino en otras cactáceas columnares (Valiente-Banuet *et al.*, 1996 y 1997).

Autores como Johnson, (2007) y Strauss y Whitall (2007) mencionan que los polinizadores son los agentes primarios de selección, por lo que suponemos entonces que los murciélagos juegan un papel importante en la selección de las características florales, como mayor cantidad de estratos celulares, la presencia de estomas en pares, todo teniendo como consecuencia la probable mejor calidad del néctar y mayor volumen.

Es importante señalar, a pesar de que tradicionalmente se les ha conferido a los murciélagos el papel principal de los polinizadores de estas especies, se han reportado otros visitantes a las flores de *N. tetetzo*, como colibríes o abejas (Valiente-Banuet *et al.*, 1996). Sin evaluarles el papel como polinizadores secundarios, como se ha hecho en otras especies, estudio ausente en el caso de *C. columna-trajani* y aún más en el híbrido.

Esto no quiere decir, que los murciélagos no sean polinizadores, sino que, ésta especialización puede no ocurrir (Waser *et al.*, 1996). Siendo probablemente el caso de *Cephalocereus columna-trajani*, que al poseer una apertura más laxa de su cámara nectarífera permitiría que otros visitantes fácilmente tomen el néctar y se lleven polen consigo, características del néctar apartadas de *N. tetetzo* y el híbrido, o el mismo color del perianto, que a pesar de ser tenue, contrasta perfectamente con el color grisáceo del cefalio, apoyarían la idea de un tipo de polinización más generalista. Barba (2012) sugiere una coevolución difusa entre la tribu Pachycereeae y los murciélagos polinizadores (ej. *Leptonycteris* sp.), favoreciendo la hipótesis de una polinización generalista.

Siendo no solo la única especie columnar que presentaría un sistema más generalista de polinización, como en *Carnegia gigantea*, *Stenocereus thurberi*, *Weberbauerocactus weberbaueri*, *Pachycereus pecten-aboriginum*, *Marginatocereus marginatus* y *Polaskia chichipe* (Fleming *et al.*, 2001; Molina-Freaner *et al.*, 2004; Bustamante y Búrquez, 2005; Dar *et al.*, 2006).

Sería deseable entonces, que los estudios continuaran y que se enfocaran por otro lado, en la polinización de estos taxa, para determinar no de manera empírica, quienes y de qué manera transportan el polen de una planta a otra, como se ha hecho en otras especies de cactáceas columnares. Evaluando la posibilidad de que especies como *C. columna-trajani* tengan un sistema de polinización relativamente generalista comparado con *N. tetetzo* y el híbrido.

El significado que tiene la hibridación en las cactáceas no es trivial, ya que ha sido considerada como uno de los fenómenos de mayor importancia en la evolución de la familia (Machado, 2008; Gorelick, 2009). Aunado a que como lo menciona Gorelick (2009) es muy probable que la fuerza evolutiva de mayor importancia en este grupo sea la deriva génica, aumentando las posibilidades de que un híbrido, con poblaciones efectivas pequeñas forme una nueva especie a lo largo del tiempo. Si este híbrido como lo mencionan Merino (2011), Ochoa (2012) y los resultados de este trabajo está destinado a reproducirse, entonces cobraría un significado evolutivo formando un nuevo linaje, aunque claro, habría que detectar hasta que generación ha llegado este híbrido, la diferenciación y la estabilización genética, como se ha hecho en otras cactáceas para llegar a conclusiones definitivas (Machado, 2008).

Aunque hay reportes de híbridos encontrados en la tribu Pachycereeae, no se ha evaluado el papel que juega en la evolución de este grupo, como se ha hecho en el caso de género *Gimnocalycium* (Repka y Mracek, 2012) y en el género *Melocactus* (Lambert *et al.*, 2006), por lo que se espera que en un futuro se pueda lograr, aclarando su papel en este grupo de cactáceas.

Así mismo evaluar el fenómeno de introgresión, su papel en las poblaciones híbridas reportadas, determinar en qué sentido se dirige y si el pool genético de alguna de las especies parentales ha sido *afectado* por este fenómeno.

Conclusiones

En *Neobuxbaumia tetetzo*, *Cephalocereus columna-trajani* y su híbrido, presentan un nectario de tipo hipantial.

La forma de la apertura de la cámara nectarial es en *C. columna-trajani*, parcialmente abierta, en cambio en *N. tetetzo* y el híbrido es de tipo cerrada.

Estructuralmente los tres nectarios son de tipo mesofilar.

Las células epidérmicas de los tres taxa, presentan su lumen celular ocupado por abundantes taninos. Respecto al tejido secretor, este presenta todas las características típicas reportadas en la literatura, en *N. tetetzo* y *C. columna-trajani* consta de dos tipos celulares, el híbrido presenta sólo uno. *N. tetetzo* presenta de 8-9 estratos celulares, *C. columna-trajani* entre 10-13 estratos y el híbrido alrededor de 30. Por debajo del tejido secretor hay presencia de parénquima de reserva, así como floema y xilema organizado en haces de tipo colateral cercanos al tejido secretor.

El modo de secreción del néctar es por estomas de tipo anisocítico en *N. tetetzo* y *C. columna-trajani* y de tipo anomocítico en el híbrido.

El mayor volumen de néctar lo presenta *N. tetetzo*, el híbrido un valor intermedio y *C. columna-trajani* el menor valor. El volumen no es directamente proporcional a la concentración y a la calidad en *N. tetetzo* y el híbrido, ya que éste último presenta la mayor concentración y mejor calidad que el primero, *C. columna-trajani* presenta los valores más bajos de éstos dos parámetros, comparándolos con *N. tetetzo* y el híbrido.

Para corroborar los resultados del néctar, es necesario hacer una nueva colecta, poniendo énfasis en un aumento y homogeneización del número de muestra, además de realizar un análisis detallado de la composición química del néctar.

Bibliografía

- Anderson, E. 2001.** The Cactus Family. Timber Press. 770 p.
- Arias, S., Gama, S. y Guzmán, U. 1997.** Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fasc. 14. Cactaceae A.L. Juss. Universidad Nacional Autónoma de México. 142 p.
- Arias, A., Valverde, M. y Reyes, J. 2000.** Las plantas de la región de Zapotitlán Salinas, Puebla. Instituto Nacional de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 79 p.
- Arias, S., Terrazas, T. y Cameron, K. 2003.** Phylogenetic analysis of *Pachycereus* (Cactaceae, Pachycereeeae) based on chloroplast and nuclear DNA sequences. *Systematic Botany*, 28(3): 547-557.
- Arias, S. y Terrazas, T. 2006.** Análisis cladístico del género *Pachycereus* (Cactaceae) con caracteres morfológicos. *Brittonia*, 58(3): 197-216.
- Arias, S. y Terrazas, T. 2008.** xPachebergia (Cactaceae), a nothogenus from western México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 79(1): 23-28.
- Azcárraga, M., Jáquez, M., Bonfil, A. y Sandoval, E. 2010.** Atlas de anatomía vegetal. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. México, D.F. 270 p.
- Bahadur, B., Subba Reddi, C., Aluri, H., Raju Jain, H. y Swamy, N. 1998.** Nectar Chemistry en: Bahadur, B. (ed.). Nectary Biology. Dattsons. 21-89.
- Baker, H. 1977.** Non-sugar chemical constituents of nectar. *Apidologie*, 8(4): 349-356.
- Baker, H. y Baker, I. 1983.** A brief historical review of the chemistry of floral nectar. en: Bentley, B. y Elias, T (Eds.). The biology of nectaries. Columbia University Press. 126-146.
- Baker, H., Baker, I. y Hodges, S. 1998.** Sugar composition of nectar and fruits consumed by birds and bats in the tropics and subtropics. *Biotropica*, 30(4): 559-586.
- Barba, J. 2009.** Origen y diversificación de la tribu Pachycereeeae (Cactaceae). Tesis de Licenciatura (Biólogo). Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 90 p.
- Barba, J. 2012.** Diversificación de Pachycereeeae (Cactaceae, Caryophyllales, Eudicotylodoneae) en relación al síndrome de polinización. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas (Sistemática). Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. 92 p.

- Barcenas, R., Yesson, C. and Hawkins, J. 2011.** Molecular systematics of the Cactaceae. *Cladistics*, 27: 1-20.
- Barthlott, W. y Hunt, D. 1993.** Cactaceae, en: Kubitzki (ed.). The families and genera of vascular plants. Vol II. Springer-Verlag. 161-196.
- Bernardello, G. 2007.** A systematic survey of floral nectaries en: Nicolson, S., Nepi, M. y Pacini, E. (eds.). Nectaries and nectar. Springer. 19-128.
- Bielecki, R. y Redgwell, R. 1980.** Sorbitol metabolism in nectaries from flowers of Rosaceae. *Australian Journal of Plant Physiology*, 7: 15-25.
- Bravo-Hollis, H. y Sánchez-Mejorada, H. 1978.** Las Cactáceas de México. Vol. I. Universidad Nacional Autónoma de México. 755 p.
- Britton, N., y Rose, J. 1919.** The Cactaceae. Vol I. The Carnegie Institution of Washington. 316 p.
- Burquez, A. y Corbet, A. 1991.** Do flowers reabsorb nectar?. *Functional Ecology*, 5(3): 369-379.
- Bustamante, E. y Búrquez, A. 2005.** Fenología y biología reproductiva de las cactáceas columnares. *Cactáceas y suculentas mexicanas*, 50(3): 68-88.
- Buxbaum, F. 1953.** Morphology of cacti. Section II. Morphology of the flower. Abbey Garden Press. 93-170 p.
- Campbell, D. y Aldridge, G. 2007.** Floral biology of hybrid zones. En: Harder, L. y Barrett, S. (Eds.). Ecology and evolution of flowers. Oxford University Press. 326-343.
- Carter, C. y Thornburg, R. 2004.** Is the nectar redox cycle a floral defense against microbial attack?. *Trends in Plant Science*, 9 (7): 320-324.
- Caspary, R. 1848.** De nectariis: a commentationem botanicam conscripsit. Bonnae: apud. A. Marcum 56 p.
- Caswell, W. y Davis A. 2011.** Pollen and ovule production, floral nectary structure, and nectar secretion dynamics in tristylous *Lythrum salicaria* L. *Plant Systematics and Evolution*, 294: 127-145.
- Chwill, M. y Weryszko-Chmielewska, E. 2009.** Characteristics of nectaries and nectar in flowers of two *Rhododendron* species. *Journal of Apicultural Science*, 53: 17-27.
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP). 2010.** Reserva de la Biósfera Tehuacán-Cuicatlán. Página en red: <http://tehuacan-cuicatlan.conanp.gob.mx/>. Consultada Octubre 22, 2012.

Convención Sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES). 2011. Apéndices I, II y III. En vigor a partir del 27 de abril de 2011. 42 p.

Dafni, A. 1992. Pollination Ecology: A practical approach. Oxford University Press. 250 p.

Dar, S., Del Coro Arizmendi, M. y Valiente-Banuet, A. 2006. Diurnal and nocturnal pollination of *Marginatocereus marginatus* (Pachycereeae: Cactaceae) in central México. *Annals of Botany*, 97: 423-427.

Dávila-Aranda, P., Arias-Montes, S., Lira-Saade, R., Villaseñor, J. y Valiente-Banuet, A. 2002. Phytogeography of the columnar cacti (Tribe Pachycereeae) in Mexico: A cladistic approach, en: Fleming, T. y Valiente-Banuet, A. Columnar cacti and their mutualists, evolution, ecology and conservation. The University of Arizona Press. 25-65 p.

Davidson, D. 1988. Ecological studies of neotropical ant gardens. *Ecology*, 69: 1138-1152.

De la Barrera, E. y Nobel, P. 2004. Nectar: properties, floral aspects, and speculations on origin. *Trends in Plant Science*, 9(2): 65-69.

Diario Oficial de la Federación. 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental. Especies nativas de México de flora y fauna silvestres. Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio. Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación, 30 de diciembre de 2010. México, D.F.

Díaz-Catelazo, C., Rico-Gray, V., Ortega, F. y Ángeles, G. 2005. Morphological and secretory characterization of extrafloral nectaries in plants of coastal Veracruz, México. *Annals of Botany*, 96: 1175-1189.

Durkee, L., Gaal, D. y Reisner, H. 1981. The floral and extra-floral nectaries of *Passiflora*. I. the floral nectary. *American Journal of Botany*, 68 (4): 453-462.

Durkee, L. 1983. The ultrastructure of floral and extrafloral nectaries. En: Bentley, B. y Elias, T (Eds.). The biology of nectaries. Columbia University Press. 1-29.

Edwards, E., Nyffeler, R. y Donoghue, M. 2005. Basal cactus phylogeny: implications of *Pereskia* (Cactaceae) paraphyly for the transition to the cactus life form. *American Journal of Botany*, 92 (7): 1177-1188.

Edwards, E. y Donoghue, M. 2006. *Pereskia* and the origin of the cactus life-form. *The American Naturalist*, 167 (6): 777-793.

- Endress, P. 1994.** Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University. 511 pp.
- Evert, R. 2006.** Esau's Plant Anatomy. Mersitens, cells, and tissues of the plant body. 3th edition. Wiley-Interscience. 601 pp.
- Fahn, A. 1979a.** Secretory tissues in Plants. Academic Press. 302 p.
- Fahn, A. 1979b.** Ultrastructure of nectaries in relation to nectar secretion. *American Journal of Botany*, 66(8): 977-985.
- Fahn, A. 1988.** Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist*, 108: 229-257
- Fahn, A. 1998.** Nectaries structure and nectar secretion en: Bahadur, B. (ed.). Nectary Biology. Dattsons. 1-20 pp.
- Fahn, A. y Shimony, C. 2001.** Nectary structure and ultrastructure of unisexual flowers of *Ecballium elaterium* (L.) A. Rich. (Cucurbitaceae) and their presumptive pollinators. *Annals of Botany*, 87: 27-33.
- Fleming, T., Sahley, C., Holland, N., Nason, J. y Hamrick, J. 2001.** Sonoran desert columnar cacti and the evolution of generalized pollination systems. *Ecological Monographs*, 71(4): 511-530.
- Fleming, T., Geiselman, C. y Kress, J. 2009.** The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective. *Annals of Botany*, 104 (6): 1017-1043.
- Fuentes-Pérez, M. 2004.** Anatomía floral de siete especies de la tribu Pachycereeae (Cactaceae). Tesis de Licenciatura (Biología). Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F.
- Fuentes-Perez, M., Terrazas, T. y Arias, S. 2009.** Anatomía floral de cinco especies de *Opuntia* (Opuntioideae, Cactaceae) de México. *Polibotánica*, 27: 87-100.
- Gaffal, K., Friedrichs, J. y El-Gammal, S. 2007.** Ultrastructural evidence for a dual function of the phloem and programmed cell death in the floral nectary of *Digitalis purpurea*. *Annals of Botany*, 99: 593-607.
- Galetto, L. 2009.** Nectary and nectar features: occurrence, significance, and trends in Bignoniaceae. *The International Journal of Plant Reproductive Biology*, 1(2): 121-132.
- García de Almeida, O., Santori-Paoli, A. y De Souza, L. 2010.** Flower morphology in *Epiphyllum phyllanthus* (Cactaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 81: 65-80.

- García de Almeida, O., Sartori, A. y Cota-Sánchez, H. 2012.** A macro- and micromorphological survey of floral and extrafloral nectaries in the epiphytic cactus *Rhipsalis teres* (Cactoideae: Rhipsalideae). *Flora*, 207: 119-125.
- Gibson, A. y Horak, K. 1978.** Systematic anatomy and phylogeny of mexican columnar cacti. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 65: 999-1057.
- Gibson, A. 1982.** Phylogenetic relationships of the Pachycereae, en: Barker, J. y Starmer, W.T. Ecological genetics and evolution, The cactus-yeast-Drosophila model system. Academic Press. 3-16.
- Gibson, A. y Nobel, P. 1986.** The cactus primer. Harvard University Press. 296 p.
- Gorelick, R.** Evolution of cacti is largely driven by genetic drift, not selection. *Bradleya*, 27: 37-48.
- Grant, V. 1989.** Especiación vegetal. Limusa. 587 p.
- Gudiño, W., Casas, A., Valiente-Banuet, A., Orozco-Martínez, R. y De la Barrera, E. 2011.** Climate and microenvironmental parameters affecting anthesis and nectar secretion for *Polaskia chende* and *P. chichiye*, endemic columnar cacti from the Tehuacán Valley, Puebla. *Journal PACD*, 13: 88-101.
- Gudiño, W. 2012.** Ecofisiología reproductiva de algunas cactáceas columnares de la tribu Pachycereae. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias. Centro de Investigación en Ecosistemas. Universidad Nacional Autónoma de México. Morelia, Michoacan. 107 p.
- Harborne, J. 1991.** Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis. 2nd edition. Chapman and Hall.
- Harborne, J. 1994.** Introduction to ecological biochemistry, 4th edition. Academic Press. 318 p.
- Heil, M. 2011.** Nectar: generation, regulation and ecological functions. *Trends in Plant Science*, 16(4): 1360-1385.
- Hernández-Hernández, T., Hernández, H., De-Nova, A., Puente, R., Eguiarte, L. y Magallon, S. 2011.** Phylogenetic relationships and evolution of the growth form in Cactaceae (Caryophyllales, Eudicotyledoneae). *American Journal of Botany*, 98(1): 44-61.
- Hillwig, M., Kanobe, C., Thornburg, R. y MacIntosh, G. 2011.** Identification of S-RNase and peroxide in petunia nectar. *Journal of Plant Physiology*, 168: 734-738.

- Horner, M., Fleming, T. y Sahley, C. 1998.** Foraging behaviour and energetics of nectar-feeding bat *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Journal of the Zoological Society of London*, 244: 575-586.
- Horner, H., Healy, R., Cervantez-Martinez, T. y Palmer, R. 2003.** Floral nectary fine structure and development in *Glycine max* L. (Fabaceae). *International Journal of Plant Science*, 164 (5): 675-690.
- Horner, H., Healy, R., Ren, G., Fritz, D., Klyne, A., Seames, C. y Thornburg, R. 2007.** Amyloplast to chromoplast conversion in developing ornamental tobacco floral nectaries provides sugar for nectar and antioxidants for protection. *American Journal of Botany*, 94(1): 12-24.
- Ibarra-Cerdeña, C., Iñiguez-Dávalos, L. y Sánchez-Cordero, V. 2005.** Pollination ecology of *Stenocereus queretaroensis* (Cactaceae), a chiropterophilous columnar cactus, in a tropical dry forest of México. *American Journal of Botany*, 92(3): 503-509.
- Johnson, S. 2007.** Pollinator-driven speciation in plants. En: Harder, L. y Barrett, S. (Eds.). *Ecology and evolution of flowers*. Oxford University Press. 295-308.
- Judd, W., Campbell, C., Kellog, E., Stevens, P. y Donoghue, M. 2002.** *Plant systematics: a phylogenetic approach*, 2nd edition. Sinauer Press. 620 p.
- Knobloch, I. 1972.** Intergeneric hybridization in flowering plants. *Taxon*, 21(1): 97-103.
- Lambert, S., Leite, E., Machado, M. y Da Silva, S. 2006.** Allozyme diversity and morphometrics of *Melocactus paucispinus* (Cactaceae) and evidence for hybridization with *M. concinnus* in the Chapada Diamantina, North-eastern Brazil. *American Journal of Botany*, 97: 389-403.
- Linné, Carl von. 1735 .** *Systema Naturae*. Lugduni: Apud J. B. Dellamolliere.
- Linné, Carl von. 1751.** *Philosophia Botanica*, translated by Stephen Freer (2003). Oxford University Press. 402 p.
- López, M., Márquez, J. y Murguía, G. 2005.** *Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas*. Las Prensas de Ciencias. México, D.F. 178 p.
- Machado, M. 2008.** What is the role of hybridization in the evolution of the Cactaceae? *Bradleya*, 26: 1-18.
- Magallon, S. y Sanderson, M. 2001.** Absolute diversification rates in angiosperm clades. *Evolution*, 55(9): 1762-1780.
- Merino, G. 2011.** Microsporogénesis, microgametogénesis y análisis palinológico de un híbrido natural (*Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani*) y de sus especies

parentales. Tesis de Licenciatura (Biología). Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 70 p.

Molina-Freaner, F., Rojas-Martínez, A., Fleming, T. y Valiente-Banuet, A. 2004. Pollination biology of the columnar cactus *Pachycereus pecten-aboriginum* in north-western México. *Journal of Arid Environments*, 56: 117-127.

Montero, O. 2004. Localización, estructura e histoquímica de nectarios florales en Cactaceae. Tesis de Licenciatura (Biología). Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 74 p.

Moran, R. 1962a. *Pachycereus orcuttii* – a puzzle solved. *Cactus and Succulent Journal (U.S.)*, 34: 88-94.

Moran, R. 1962b. The unique cereus of Rosario Bay. *Cactus and Succulent Journal (U.S.)*, 34: 184-188.

Nepi, M., Human, H., Nicolson, S., Cresti, L. y Pacini, E. 2006. Nectary structure and nectar presentation in *Aloe castanea* and *Aloe greatheadii* var *davyana* (Asphodelaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 257: 45-55.

Nepi, M. 2007. Nectary structure and ultrastructure, en: Nicolson, S., Nepi, M. y Pacini, E. (eds.). *Nectaries and nectar*. Springer. 129-166.

Nepi, M. y Stpiczynska, M. 2007. Nectar resorption and translocation in *Cucurbita pepo* L. and *Platanthera chlorantha* Custer (Rchb.) *Plant Biology*, 9: 93-100.

Nicolson, S. y Thornburg, R. 2007. Nectar Chemistry, en: Nicolson, S., Nepi, M. y Pacini, E. (eds.). *Nectaries and nectar*. Springer. 215-264.

Nyffeler, R. 2002. Phylogenetic relationships in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from trnK/matK and trnL-trnF sequences. *American Journal of Botany*, 89(2): 312-326.

Nyffeler, R. y Uggli, U. 2010. A farewell to dated ideas and concepts – molecular phylogenetics and a revised suprageneric classification of the family Cactaceae. *Schumannia*, 6: 109-149.

Ochoa, M. 2012. Sistemas de apareamiento en *Neobuxbaumia tetetzo* x *Cephalocereus columna-trajani* (Cactaceae) de la reserve de la biósfera de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla. Tesis de Licenciatura (Biología). Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 65 p.

Pacini, E. y Nepi, M. 2007. Nectar production and presentation. En: Nicolson, S., Nepi, M. y Pacini, E. (eds.). *Nectaries and nectar*. Springer. 167-214.

- Pacini, E., Nepi, M. y Vesprini, J. 2003.** Nectar biodiversity: a short review. *Plant Systematics and Evolution*, 238: 7-21.
- Pacini y Nicolson, .2007.** Introduction, en: Nicolson, S., Nepi, M. y Pacini, E. (eds.). *Nectaries and nectar*. Springer. 1-18.
- Percival, M. 1961.** Types of nectar in angiosperms. *New Phytologist*, 60 (3): 235-281.
- Pellmyr, O. 2002.** Pollination by animals, en: Herrera, C. y Pellmyr, O. (Eds.) *Plant-Animal interactions an evolutionary approach*. Blakwell. 157-184.
- Petanidou, T., Goethals, V. y Smets, E. 2000.** Nectary structure of Labiatae in relation to their nectar secretion and characteristics in a Mediterranean shrub community, does flowering time matter?. *Plant Systematics and Evolution*, 225: 103-118.
- Petanidou, T. 2007.** Ecological and evolutionary aspects of floral nectars in Mediterranean habitats, en: Nicolson, S., Nepi, M. y Pacini, E. (eds.). *Nectaries and nectar*. Springer. 343-376.
- Petit, S. y Freeman, E. 1997.** Nectar production of two sympatric species of columnar cacti. *Biotropica*, 29(2): 175-183.
- Pinkava, D. 2002.** On the evolution of the continental North American Opuntioideae (Cactaceae), en: Hunt, D. y Taylor, N. (eds.). *Studies in Opuntioideae. Succulent Plant Research, Volume Six*. 59-98.
- Powell, A., Zimmerman, A. y Hilsenbeck, R. 1991.** Experimental documentation of natural hybridization in Cactaceae: Origen of Lloyd's hedgehog cactus, *Echinocereus xloydii*. *Plant Systematics and Evolution*, 178: 107-122.
- Proctor, M., Yeo, P. y Lack, A. 1996.** *The natural history of pollination*. Timber press, 479 p.
- Repka, R. y Mracek, J. 2012.** *Fymnocalycium esperanzae*: a nothospecies?. *Haseltonia*, 18: 105-115.
- Rudall, P., Manning, J. y Goldblatt, P. 2003.** Evolution of floral nectaries in Iridaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 90(4): 613-631.
- Rudramuniyappa, C. y Manure, A. 1988.** Ontogeny, structure, and histochemistry of floral nectaries in *Kigelia pinnata* DC (Bignoniaceae). en: Bahadur, B. (ed.). *Nectary Biology*. Dattsons. 77-105.
- Ruzin, S. 1999.** *Plant Microtechnique and Microscopy*. Oxford University Press. 321 p.
- Rzedowski, J. 1978.** *Vegetación de México*. 1ra. Edición digital. Comisión para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. 504 p.

- Santos, R. 2002.** Composición de azúcares y contenido energético de néctar de nueve especies quiropterófilas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Tesis de Licenciatura (Biología). Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 34 p.
- Santos, R. 2006.** Composición del néctar actividad de la invertasa en Pachycereeae (Cactaceae) y su relación con los sistemas de polinización. Tesis (Maestría en Ciencias Biológicas). Instituto de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 61 p.
- Schmid, R. 1988.** Reproductive versus extra-reproductive nectaries-historical perspective and terminological recommendations. *The botanical review*, 54 (2): 179-232.
- Shanmukha, R. y Ramayya, N. 1998.** Structure, distribution and phylogenetic significance of the nectaries in Malvales en: Bahadur, B. (ed.). Nectary Biology. Dattsons. 40-54.
- Stpiczynska, M., Milanesi, C., Faleri, C., Cresti, M. 2005.** Ultrastructure of the nectary spur of *Platanthera chlorantha* (Custer) Rehb. (Orchidaceae) during successive stages of nectar secretion. *Acta Biologica Cracoviensia, Series Botanica*, 47 (2): 111-119.
- Strauss, S. y Whittall, J. 2007.** Non-pollinator agents of selection on floral traits. En: Harder, L. y Barrett, S. (Eds.). Ecology and evolution of flowers. Oxford University Press. 120-136.
- Swain, T. 1977.** Secondary compounds as protective agents. *Annual Review of Plant Physiology*, 28: 479-501.
- Terrazas, T. y Loza-Cornejo, S. 2002.** Phylogenetic relationships of Pachycereeae: a cladistic analysis based on anatomical-morphological data, en: Fleming, T. y Valiente-Banuet, A. (Eds.). Columnar cacti and their mutualists, evolution, ecology and conservation. The University of Arizona Press. 66-86.
- Valencia, S., Martínez, M., Cruz, R., Jiménez, J. y Rodríguez, E. 2012.** Glosario ilustrado de embriofitas. Universidad Nacional Autónoma de México. Las Prensas de Ciencias. México, D.F. 119 p.
- Valiente-Banuet, A., Arizmendi, M. C., Rojas-Martínez, A., Domínguez-Canseco, L. 1996.** Ecological relationships between columnar cacti and nectar-feeding bats in Mexico. *Journal of tropical Ecology*, 12(1): 103-119.
- Valiente-Banuet, A., Arizmendi, M.C., Rojas-Martínez, A. y Davila, P. 1997.** Pollination biology of two columnar cacti (*Neobuxbaumia mezcalensis* and *Neobuxbaumia macrocephala*) in the Tehuacan valley, central Mexico. *American Journal of Botany*, 84(4): 452-455.

- Valiente-Banuet, A. 2002.** Vulnerabilidad de los sistemas de polinización de cactáceas columnares de México. *Revista Chilena de Historia Natural*, 75: 99-104.
- Valiente-Banuet, A., Solis, L., Davila, P., Del Coro Arizmendi, MM., Silva, C., Ortega-Ramírez, J., Treviño, J., Rangel-Landa, S. y Casas, A. 2009.** Guía de la vegetación del valle de Tehuacán-Cuicatlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. 206 p.
- Vesprini, J., Nepi, M. y Pacini, E. 1999.** Nectary structure, nectar secretion patterns and nectar composition in two *Helleborus* Species. *Plant Biology*, 1: 560-568.
- Veza, M., Nepi, M., Guarnieri, M., Artese, D., Rascio, N. y Pacini, E. 2006.** Ivy (*Hedera helix* L.) Flower nectar and nectary ecophysiology. *International Journal of Plant Science*, 167 (3): 519-527.
- Villamil, N., Márquez-Guzmán, J. y Boege, K. 2013.** Understanding ontogenetic trajectories of indirect defence: ecological and anatomical constraints in the production of extrafloral nectaries. *Annals of Botany*. doi: 10.1093/aob/mct005
- Vite, F., Portilla, E., Zavala-Hurtado, J., Valverde, P. y Díaz-Solís, A. 1996.** A natural hybrid population between *Neobuxbaumia tetetzo* and *Cephalocereus columna-trajani* (Cactaceae). *Journal of Arid Environments*, 32: 395-405.
- Vogel, S. 1977.** Nektarien und ihre ökologische bedeutung. *Apidologie*, 8(4): 321-335.
- Wallace, R. y Cota, H. 1996.** An intron loss in the chloroplast gene rpo C1 supports a monophyletic origin for the subfamily Cactoideae of the Cactaceae. *Current Genetics*, 29: 275-281.
- Wallace, R. 2002.** The phylogeny and systematics of columnar cacti. An overview, en: Fleming, T. y Valiente-Banuet, A. Columnar cacti and their mutualists, evolution, ecology and conservation. The University of Arizona Press. 42-65.
- Waser, N., Chittka, L., Price, M., Williams, N. y Ollerton, J. 1996.** Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology*, 77(4): 1043-1060.
- Waser, N. y Ollerton, J. 2006.** Plant-Pollinator Interactions from specialization to generalization. University of Chicago Press. 488 p.
- Ya-Xin Ge, Angenent, G., Wittich, P., Peters, J., Franken, J., Busscher, M., Zhang, L., Dahlhaus, E., Kater, M., Wullems, G. y Creemers-Molenaar, T. 2000.** NEC1, a novel gene, highly expressed in nectary tissue of *Petunia* hybrid. *The Plant Journal*, 24 (6): 725-734.