

MORFO-ANATOMÍA CUANTITATIVA DE LAS FLORES PISTILADAS Y ESTAMINADAS DE *CUCURBITA MAXIMA* SUBSP. *ANDREANA* (CUCURBITACEAE)

LORENA ASHWORTH & LEONARDO GALETTO

Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Universidad Nacional de Córdoba, Casilla de Correo 495, 5000 Córdoba, Argentina

ABSTRACT: Ashworth, L. & Galetto, L. 1999. Quantitative morpho-anatomical studies of pistillate and staminate flowers of *Cucurbita maxima* subsp. *andreana* (Cucurbitaceae). *Darwiniana* 37(3-4): 187-198.

The flowers of *Cucurbita maxima* subsp. *andreana* are solitary. Staminate flowers can be found mainly on proximate portions of the branches while the pistillate are on distal portions. Each staminate flower has five monotelic stamens and ca. 90,000 pollen grains, while each pistillate one presents ca. 300 ovules. The axial nectary is symmetric, occupying an area of ca. 100 mm², positioned on the hypanthium, and supplied by phloem and xylem. The following morphological and anatomical parameters of the nectary were considered in order to compare both flower types: nectary surface; distribution, number and size of the stomata; number and diameter of the starch granules and cellular and nuclear diameter of the cells of nectariferous and non-nectariferous tissues. The non-secreting parenchyma showed the highest nuclear and cellular diameter but the lowest value of the nuclear/cell size relationship. No significant differences were found between the cells of the nectary epidermis and those of the secretory tissue. The nectary showed a higher number of starch granules in bud-stage compared to open flower-stage. This fact would indicate that there is a starch accumulation in the nectary until nectar secretion. The results obtained here allow us to relate morpho-anatomical traits with the nectar secretion pattern and with different aspects of the reproductive biology.

Key words: Floral morphology, Anatomy, Cytology, Nectary structure, *Cucurbita*, Cucurbitaceae.

RESUMEN: Ashworth, L. & Galetto, L. 1999. Morfo-anatomía cuantitativa de las flores pistiladas y estaminadas de *Cucurbita maxima* subsp. *andreana* (Cucurbitaceae). *Darwiniana* 37(3-4): 187-198.

Cucurbita maxima subsp. *andreana* tiene flores solitarias. Las estaminadas se hallan principalmente en las zonas proximales de las guías, mientras que las pistiladas están sobre las zonas distales. Cada flor estaminada tiene cinco estambres monotécicos y ca. 90.000 granos de polen, mientras que cada flor pistilada contiene ca. 300 óvulos. El nectario es axial, simétrico, ocupa un área de ca. 100 mm², está irrigado por floema y xilema y se encuentra sobre el hipanto. Los parámetros morfológicos y anatómicos del nectario que se compararon entre ambos tipos de flores fueron los siguientes: superficie del nectario, distribución, número y tamaño de los estomas, diámetro y número de gránulos de almidón y diámetro celular y nuclear en las células del tejido nectarífero y no nectarífero. El parénquima no secretor mostró los valores más altos de diámetro nuclear y celular pero los más bajos en la relación tamaño nuclear / tamaño celular. No se encontraron diferencias significativas entre las células de la epidermis nectarífera y las del tejido secretor. En el nectario se observó un mayor número de gránulos de almidón para el estado de pimpollo que en las flores abiertas. Esta observación indicaría que se produce una acumulación de almidón en el nectario antes de la secreción del néctar. Los resultados obtenidos aquí nos permiten relacionar caracteres morfo-anatómicos con los patrones de secreción del néctar y diferentes aspectos de la biología reproductiva.

Palabras clave: Morfología floral, Anatomía, Citología, Estructura del nectario, *Cucurbita*, Cucurbitaceae.

INTRODUCCIÓN

Las Cucurbitaceae comprenden unas 800 especies distribuidas principalmente en las regiones tropicales de todo el mundo (Mabberley, 1997). El género *Cucurbita* L. incluye, según distintos autores, entre 12 y 26 especies (Whitaker & Bemis, 1975; Nee, 1990) de distribución exclusivamente americana. Evidencias arqueológicas y estudios etnobotánicos permiten afirmar que cinco de sus especies fueron domesticadas desde tiempos precolombinos (Whitaker, 1981). Varias de ellas tienen gran importancia alimenticia, tanto en la actualidad como en épocas pasadas para las culturas prehispánicas (Parodi, 1935): *Cucurbita pepo* L. ("Zapallo de angola"), *C. moschata* Duch. ("Calabaza"), *C. ficifolia* Bouché ("Alcayota"), *C. maxima* Duch. ("Zapallo criollo", "Zapallito de tronco" y otras variedades). De ellas, sólo *C. maxima* fue encontrada exclusivamente en Sudamérica con una antigüedad de casi 4000 años (Whitaker, 1981).

Cucurbita maxima subsp. *andreana* (Naudin) Filov debe agregarse a la lista de plantas con uso local en América, donde los frutos fueron utilizados como vasijas o contenedores (Millán, 1945, bajo el nombre de *Cucurbita andreana* Naudin). Es una planta silvestre de Argentina central y Uruguay, que habita terrenos modificados (Parodi, 1935) en los que se comporta como maleza (Pozner, 1998). Se la conoce por distintos nombres vulgares: "Yeruá" en Entre Ríos y Uruguay "Cháncara" en San Luis y Córdoba y "Zapallo amargo" en Buenos Aires y Santa Fe (Parodi, 1935). Es anual, de tamaño muy variable y tallos rastreros, de cuyos nudos se originan zarcillos 3-6-fidos (Ashworth, 1997). Las hojas son orbiculares, reniformes o trilobadas (Pozner, 1998) carentes de nectarios extraflorales (Hunziker & Subils, 1975). Los frutos son generalmente ovoides (Martínez Crovetto, 1974), con pulpa fibrosa (Millán, 1945), de cáscara verde con estrías longitudinales blancas (Martínez Crovetto, 1974) y se caracterizan por ser extremadamente amargos y tóxicos (Parodi, 1935).

En las plantas anuales, es frecuente la aparición de polimorfismos florales y de semillas, probablemente porque la imprevisibilidad ambiental que enfrentan tenga severas consecuencias para su supervivencia (Waller, 1988). Estos polimorfismos generalmente reflejan alguna especialización en distintos caracteres reproductivos (Waller, 1988 y referencias allí citadas). En el caso particular de la familia

Cucurbitaceae y según descripciones realizadas por Whitaker & Davis (1962), las flores de diferentes géneros y especies de uso comercial varían considerablemente en tamaño y color, aunque son similares en su morfología general. *Cucurbita maxima* subsp. *andreana* posee gran interés filogenético, por su extrema afinidad con *Cucurbita maxima* subsp. *maxima* (Contardi, 1939; Bemis et al., 1970; bajo el nombre de *Cucurbita maxima*) y fitogeográfico, al ser el más austral de los taxones del género. El objetivo principal del presente trabajo es estudiar las flores pistiladas y estaminadas *Cucurbita maxima* subsp. *maxima* desde el punto de vista morfo-anatómico, cuantificando distintos caracteres a fin de comparar ambos tipos de flores; a la vez, este trabajo constituye la base de una próxima contribución sobre la biología reproductiva de este taxón. Finalmente y aunque los estudios cuantitativos de este tipo referidos a plantas silvestres del género son escasos, se intentarán establecer posibles semejanzas o diferencias con distintos taxones de la familia estudiados previamente (por ej. Nepi & Pacini, 1993; Nepi et al., 1996).

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras pertenecen a una población natural de *C. maxima* subsp. *andreana* y fueron coleccionadas durante los meses de enero y febrero de 1998. La misma se ubica en la localidad de Tilisarao, Dpto. Chacabuco, provincia de San Luis. Los datos se tomaron sobre unos veinticinco individuos distribuidos aleatoriamente dentro de una parcela arada pero no cultivada. Los ejemplares de herbario se encuentran depositados en CORD (Galletto & Ashworth 798 - 801).

Morfología

Con el fin de describir la morfología floral de *C. maxima* subsp. *andreana*, se coleccionaron flores pistiladas (n = 30) y estaminadas (n = 30) recién abiertas y sobre éstas se midieron en el campo las siguientes variables: longitud y anchura del estilo, el ovario y la corola, diámetro del tubo corolino, longitud del cáliz, del estigma y del sinantéreo; además, en las flores pistiladas, se registró el número de óvulos y el grado de fusión de sus estaminodios. Por otro lado, se fijaron en FAA pimpollos a punto de abrir con las anteras aun indehiscentes, con el objeto de estimar la cantidad de granos de polen por flor. Los pasos seguidos fueron los siguientes: to-

das las anteras de cada pimpollo (en total 5 flores) se abrieron con ayuda de un bisturí y se removieron los granos de polen que fueron depositados sobre un portaobjetos. Luego, el polen se colocó en una solución (Dafni, 1992) de volumen conocido de la cual se extrajeron seis alícuotas de 1 μ l. En cada una de éstas, se contaron todos los granos de polen presentes con ayuda de un microscopio óptico. Finalmente, luego de obtenerse la media, se extrapolaron los datos al volumen inicial. El diámetro de los granos de polen ($n = 20$ por pimpollo) se midió en material teñido con azul de anilina en lactofenol, examinando 5 pimpollos a punto de abrir.

Anatomía

Para el análisis de la anatomía y la estructura floral, se fijaron en FAA flores de ambos tipos. El material fue sometido a una serie de deshidratación con alcohol etílico-xileno y luego incluido en parafina. Los cortes longitudinales y transversales seriados de 12 μ m de espesor, fueron teñidos con Azul de Toluidina y posteriormente desparafinados (Sakai, 1973).

Para completar el estudio del nectario en particular, el material (flores y pimpollos pistilados y estaminados) fue fijado en FAA, realizándose cortes longitudinales a mano alzada que posteriormente se tiñeron con azul de anilina en lactofenol. Se cuantificaron distintos parámetros estructurales relacionados con el desarrollo y la actividad del nectario (se midieron 20 células / flor en un total de 6 flores, tres de cada tipo) en flores en anthesis y en pimpollos (un día antes de la apertura floral): tamaño celular (sobre el eje longitudinal) y nuclear, relación tamaño nuclear / tamaño celular (n/c) y características de los gránulos de almidón (tamaño y cantidad por célula, en cortes longitudinales). Se obtuvieron datos de cada una de estas variables para células del tejido epidérmico, parenquimático secretor y parenquimático no secretor. Además, se estimó la superficie total del nectario en 10 flores de cada tipo y se consideró la ubicación, el diámetro (se midieron 20 estomas / flor, en 4 flores de cada tipo) y el número de estomas por nectario.

El tejido nectarífero fue desplegado y extendido con objeto de facilitar el cálculo de su superficie, la cual se estimó con ayuda de una lupa estereoscópica y un ocular micrométrico mediante la fórmula de la superficie de un rectángulo (base por altura); esta variable se comparó entre flores pistiladas y estaminadas mediante la prueba *t*. Para

calcular el diámetro de los estomas se midió la longitud y el anchura de las células oclusivas incluyendo el ostíolo; las dos variables se compararon entre ambas flores a través de la prueba de Mann-Whitney, mientras que para flores del mismo tipo se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis. El número de estomas por nectario se comparó entre los dos tipos florales a través de la prueba *t*. En cada uno de los tejidos (epidérmico, secretor y parenquimático no secretor), las características celulares entre ambos tipos de flores y entre flores abiertas y pimpollos, se compararon mediante la prueba de Mann-Whitney, excepto en el caso del tamaño celular del parénquima no secretor entre flores y pimpollos, donde se utilizó la prueba *t*. Por otro lado, dichos caracteres también se contrastaron entre los tres tipos de tejidos a través de la prueba de Kruskal-Wallis en el caso de las variables tamaño nuclear, celular y relación n/c, y mediante la prueba de Mann-Whitney para el número y diámetro de los gránulos de almidón. Las diferencias significativas entre los tratamientos se evaluaron mediante la prueba a posteriori de Wilcoxon. A fin de establecer relaciones entre los datos, se obtuvo el coeficiente de correlación de Spearman para todos los pares de variables posibles (número de gránulos de almidón/célula, tamaño de las células, de los núcleos y de los gránulos de almidón). Finalmente, se realizaron también correlaciones no paramétricas considerando las mismas variables en cada uno de los tejidos nectaríferos (parénquima secretor y epidermis) por separado.

RESULTADOS

Morfología de la flor

Cucurbita maxima subsp. *andreana* posee flores solitarias e imperfectas, actinomorfas, erectas, de color amarillo fuerte y de gran tamaño. Presentan un receptáculo anchamente acampanado, que en las flores pistiladas encierra completamente al ovario. El cáliz se compone de cinco sépalos lineares, de 1-1,5 cm de longitud y de color verde que se alternan con cinco pétalos amarillos. Éstos conforman una corola campanulada gamopétala, de 3,1-7,7 cm de longitud y base estrecha que, en las flores pistiladas, permanece adherida al receptáculo hasta que el fruto comienza a desarrollarse. Todas las piezas florales mencionadas presentan gran variación de tamaño (Tabla 1) y pilosidad muy abun-

Tabla 1.- Morfometría de flores estaminadas y pistiladas de *Cucurbita maxima* subsp. *andreaana*. Los valores indicados corresponden a la media \pm desviación estándar, (rango).

Caracteres	flor estaminada	flor pistilada
Longitud de la corola (cm)	5,11 \pm 1,08 (3,3 - 7,7)	4,83 \pm 0,86 (3,1 - 6,5)
Diámetro de la corola (cm)	5,35 \pm 0,10 (3,5 - 7,0)	4,94 \pm 1,07 (3,2 - 6,7)
Diámetro del tubo corolino (cm)	1,82 \pm 0,26 (1,6 - 2,3)	1,91 \pm 0,34 (1,4 - 2,5)
Longitud cáliz (cm)	1,47 \pm 0,31 (1,0 - 2,0)	1,14 \pm 0,37 (0,5 - 1,9)
Longitud sinatéreo (cm)	1,00 \pm 0,11 (0,8 - 1,3)	
Diámetro del grano de polen (μ m)	133,00 \pm 9,10 (116,5 - 155,2)	
Nro. de granos de polen / flor	93333 \pm 50880 (48000 - 149000)	
Longitud estigma (cm)		0,64 \pm 0,16 (0,3 - 1)
Longitud estilo (cm)		1,05 \pm 0,16 (0,5 - 1,2)
Anchura estilo (cm)		0,36 \pm 0,08 (0,2 - 0,5)
Anchura ovario (cm)		1,49 \pm 0,20 (1,1 - 1,9)
Longitud ovario (cm)		2,09 \pm 0,22 (1,7 - 2,5)
Nro. de óvulos / ovario		354,50 \pm 92,54 (249 - 546)

dante. En ambos tipos de flores el nectario se encuentra sobre el hipanto; esta estructura (nectario + hipanto) se desprende junto con la corola al final de la vida de la flor. Las flores estaminadas son más numerosas en la zona central de la planta (es decir, en el área de nacimiento de las guías), en tanto que las pistiladas predominan en la zona terminal de las guías vegetativas.

Las flores estaminadas poseen pedicelos huecos, más largos y delgados que los de las pistiladas. La corola mide en promedio 5,1 cm de longitud por 5,4 cm de anchura, en tanto que el tubo corolino en su zona media mide aproximadamente 1,8 cm de diámetro (Tabla 1). Cada flor presenta cinco estambres de filamentos breves, que se hallan fusionados en casi toda su longitud, excepto en la base. Sin embargo, a simple vista sólo es posible observar tres filamentos apoyados entre sí, dejando en su parte basal tres orificios, semicubiertos por pelos

epidérmicos, que comunican con la cámara nectarífera (Fig. 1 A). Las cinco anteras tubulares plegado-flexuosas (Fig. 1 B) están fusionadas formando una cabezuela central de 1 cm de longitud por 0,2 cm de anchura (Tabla 1). Cada antera esta constituida por dos lóculos de dehiscencia longitudinal, la cual comienza a producirse en el pimpollo 24 horas antes de la apertura de la flor. Cada flor contiene aproximadamente 90.000 granos de polen (Tabla 1), éstos son esferoidales pantoporados y operculados, tienen un diámetro promedio de 133 μ m y presentan "Pollenkit". La exina de los opérculos posee macroespinas cónicas semejantes a las del resto de la superficie del grano.

Las flores pistiladas poseen pedicelos sólidos y gruesos, ovario ínfero y ovoide de 2,1 cm de longitud y 1,5 cm de diámetro. El número de óvulos por ovario es un carácter muy variable (249-546 óvulos / ovario), siendo el promedio de 354 (Tabla 1). La corola mide en promedio 4,8 cm de longitud por 4,9 cm de anchura, mientras que el diámetro del tubo corolino en su zona media es de aproximadamente 1,9 cm (Tabla 1). El gineceo se compone de un estilo breve (1 cm) y grueso (0,4 cm) que termina en tres ramas apicales. A su vez, estas últimas soportan tres estigmas secretores bilobados (Fig. 2 B) que generalmente se encuentran fusionados entre sí y cuya longitud es de aproximadamente 0,6 cm (Tabla 1). El nectario tiene forma de anillo cóncavo, se ubica por encima del ovario ínfero y se apoya sobre el hipanto, rodeando la base del estilo (Fig. 2 A). Entre el nectario y los pétalos, se ubican 5 estaminodios que se encuentran fusionados entre sí, de a pares (en la mayoría de los casos: 65,5 %), quedando uno libre. Es decir, en general y a simple vista, sólo es posible observar 3 estaminodios por flor (Fig. 2 A).

Anatomía de la flor

Flores estaminadas: en el pedicelo, el sistema vascular está compuesto por 10 hacecillos bicolorales (Fig. 1 H), dispuestos en anillo. Luego, se ramifican formando dos anillos vasculares más internos, con un total de 25 hacecillos (Fig. 1 G). El nectario se encuentra en una depresión interna ubicada por debajo del nacimiento de los filamentos (Figs. 1 A, D-F; 3 A); tiene posición axial, es simétrico (Fig. 1 D-F), se tiñe intensamente (Fig. 3 A) y su superficie es de aproximadamente 100 mm², valor que no difiere significativamente ($t = 0,28$; $P < 0,781$; Tabla 2) de lo observado en la flor pistilada.

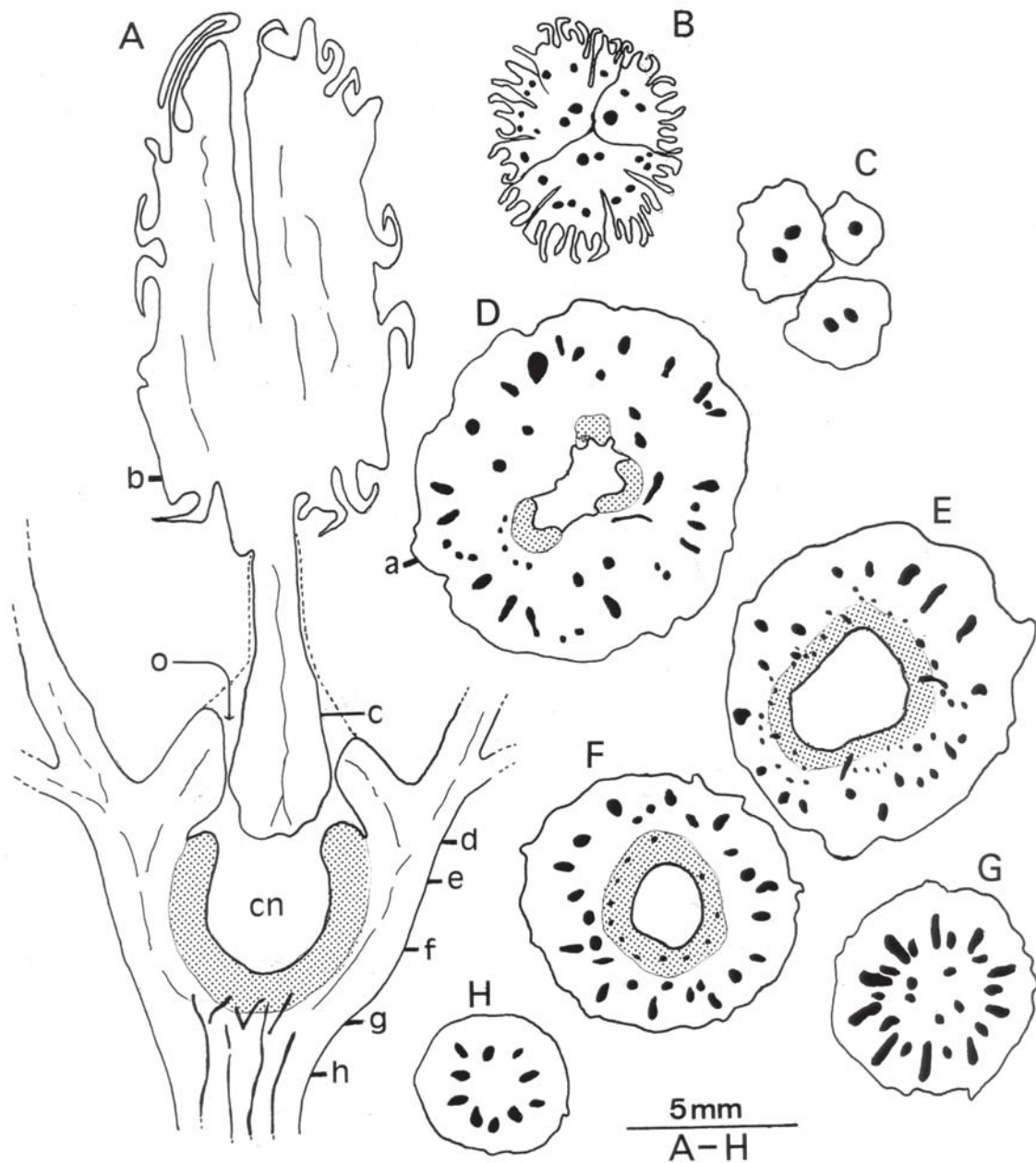


Fig. 1.- Esquemas de cortes de una flor estaminada de *Cucurbita maxima* subsp. *andreana*. A: corte longitudinal según el plano "a" indicado en D. B-H: cortes transversales según los planos "b-h" indicados en A. B: sinatéreo. C: filamentos. D-F: ápice, zona media y base del nectario respectivamente. G-H: pedicelo. La trama punteada indica el nectario. Abreviaturas: o, orificio entre los filamentos estaminales; cn, cámara nectarífera. (De CORD 799).

Los filamentos presentan cinco hacecillos anficribales en la zona de su nacimiento (Fig. 1 C), los cuales se hacen biclaterales a la altura del receptáculo. En las anteras (Fig. 3 E), las células del endotecio se disponen formando varios estratos

y sus paredes presentan engrosamientos columnares y en forma de U (Fig. 3 F).

Tejido epidérmico del nectario: es de tipo secretor, constituido por una capa de células poligonales densamente teñidas, con paredes gruesas

Tabla 2.- Características citológicas cuantitativas y superficie del nectario de flores pistiladas y estaminadas de *Cucurbita maxima* subsp. *andreana*. Los valores corresponden a las medias \pm desviación estándar. Abreviaturas: D, diámetro; E, estaminada; P, pistilada; Ep, epidermis; PS, parénquima secretor; PNS, parénquima no secretor; s/d, sin datos; NS, no significativo, *, $P < 0,05$

sas y sin espacios intercelulares (Fig. 3 C-D). El tamaño celular no difiere entre estadios ni entre tipos florales. El tamaño nuclear es mayor en las flores estaminadas que en las pistiladas, pero la relación n/c se mantiene relativamente constante entre ambos tipos de flores. En cambio, el número de gránulos de almidón es mayor (aunque de menor diámetro) en las flores pistiladas y en los pimpollos, en comparación con el de las flores estaminadas y en anthesis, respectivamente (Tabla 2). La cutícula que lo cubre es gruesa y la epidermis presenta aproximadamente 1100 estomas distribuidos uniformemente en toda la superficie nectarífera (Fig. 3 C-D). El tamaño de los mismos es de aproximadamente 20 μm de diámetro longitudinal y 18 μm de diámetro transversal, medidas significativamente inferiores a las observadas en los estomas de las flores pistiladas (Tabla 3). Aunque, vale aclarar, se observó variabilidad significativa entre las flores estaminadas estudiadas para la longitud de las células oclusivas ($H = 9,599$; $P < 0,0059$).

Parénquima secretor: es multistratificado con escasos espacios intercelulares, sus células son isodiamétricas en corte longitudinal y de tamaño muy variado (Fig. 3 B). Aunque el tamaño celular y nuclear es mayor en los pimpollos que en las flores abiertas, la relación n/c entre estadios florales y entre tipos de flores no varía significativamente (Tabla 2). Al realizarse comparaciones entre tipos (pistiladas y estaminadas) y estadios florales (pimpollos y flores). Se encontraron las mismas tendencias en cuanto al número y diámetro de los gránulos de almidón (Tabla 2), mencionados para el tejido epidérmico.

Parénquima no secretor: es multistratificado, sus células son alargadas (en corte longitudinal) y carecen de gránulos de almidón. El tamaño nuclear y celular es mayor en los pimpollos que en las flores abiertas; sin embargo, la relación de tamaño n/c se mantiene constante. Es decir, no hay diferencias significativas si se considera la proporción de tama-

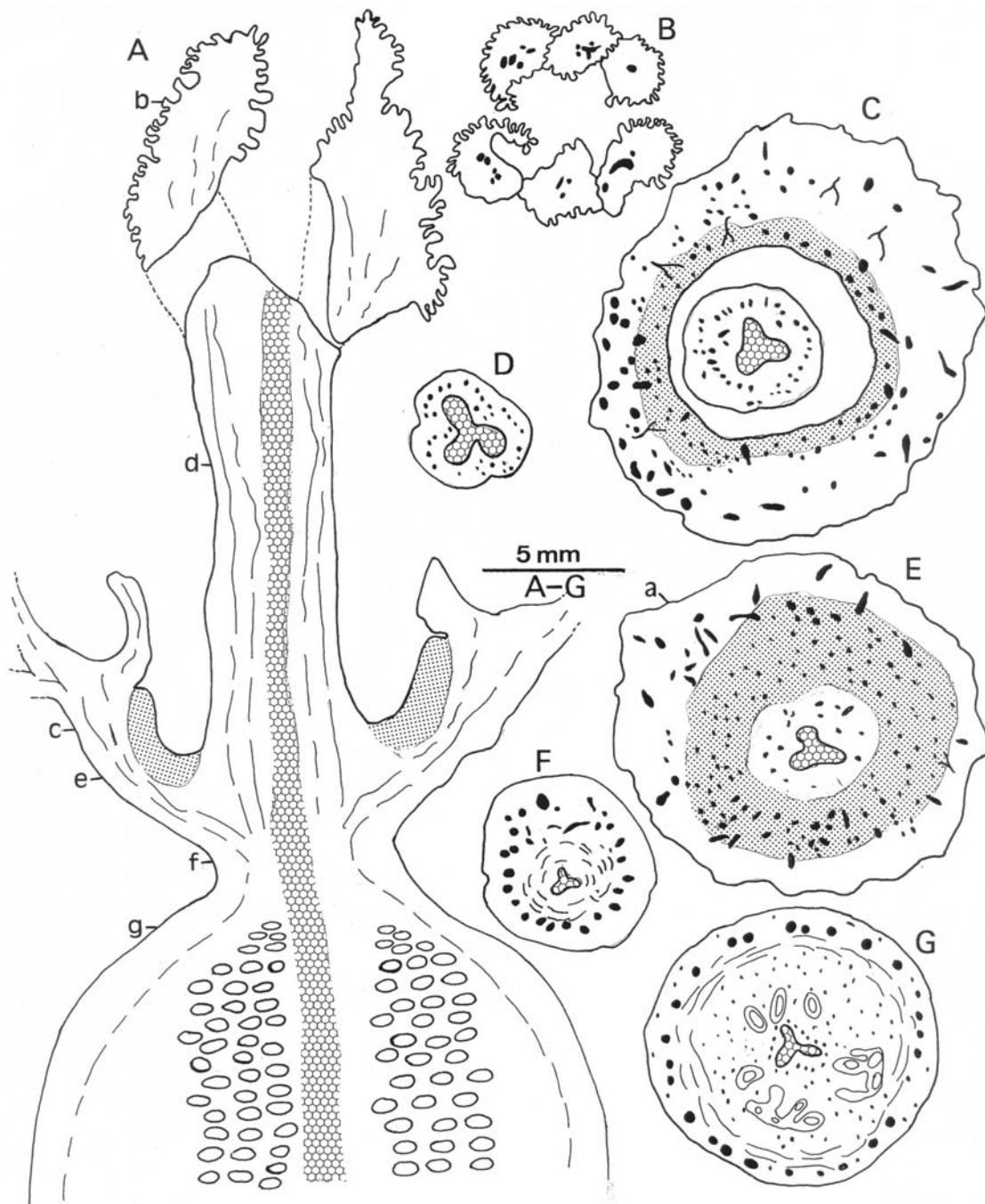


Fig. 2.- Esquemas de cortes de una flor pistilada en *Cucurbita maxima* subsp. *andrea*. A: sector de un corte longitudinal según plano «a» indicado en E. B-G: cortes transversales según los niveles del gineceo «b-g» indicados en A. B: estigma. C: zona apical del nectario. D: estilo. E: zona basal del nectario. F: unión entre el ovario y el receptáculo. G: parte apical del ovario. La trama punteada indica el nectario y la trama hexagonal, el tejido de transmisión. (De CORD 799).

ño de las variables entre estadios florales (Tabla 2). No hubo diferencias en el tamaño nuclear pero al compararse tipos florales, pero las estaminadas pre-

sentan mayor tamaño celular y, por lo tanto, menor relación n/c que las pistiladas.

El tejido vascular penetra hasta el parénquima

Tabla 3.- Características de los estomas del nectario de flores pistiladas y estaminadas de *Cucurbita maxima* subsp. *andrea*. Los valores indican las medias \pm desviación estándar.

secretor (Figs. 1 E-F, 3 A) en forma de hacecillos anficribales. En el sector basal del nectario los hacecillos se disponen formando 2-3 anillos (en corte transversal), en tanto que solo se observa uno en la zona media del mismo (Fig. 1 E). Los hacecillos están orientados (en corte longitudinal) tanto en forma longitudinal como transversal, haciéndose dominante esta última orientación en la parte apical del nectario.

Flores pistiladas: Los estaminodios se hallan irrigados por hacecillos vasculares de xilema y floema (Fig. 2 A) y su epidermis presenta numerosos estomas y pelos pluricelulares. En el estilo el tejido de transmisión se halla dispuesto en tres columnas fusionadas (Fig. 2 D, F), constituidas por células largas de sección circular, sin espacios intercelulares y más pequeñas que las del parénquima adyacente. El núcleo presenta la misma forma alargada de la célula y, por su gran dimensión, ocupa casi la mitad del contenido celular. Este tejido presenta una coloración mucho más intensa que el parénquima adyacente y, en el estilo en general, la vasculatura está constituida por hacecillos bicolaterales. El ovario es tricarpelar, unilocular y con placentación parietal (Fig. 2 G). El nectario tiene forma de anillo simétrico, se apoya sobre el hipanto (Fig. 2 A, C-E) y rodea la base del estilo. Su superficie es levemente inferior a la del nectario de la flor estaminada (Tabla 2).

La epidermis del nectario presenta en promedio mayor cantidad de estomas (1500 estomas distribuidos uniformemente por toda su superficie) en comparación a lo encontrado en las flores estaminadas (Tabla 3). Se observó gran variabilidad floral en el diámetro de los estomas, encontrándose diferencias significativas entre las flores pistiladas estudiadas ($H = 9,31$; $P < 0,028$ para el diámetro longitudinal y $H = 13,05$; $P < 0,0037$ para el diámetro transversal). Las características celulares cualitativas de cada tejido son similares a las ya descritas para las flores estaminadas. Los hacecillos vasculares

en el nectario son anficribales y penetran en forma longitudinal y transversal hasta el parénquima secretor, siendo la zona basal la más irrigada (incluso más que en la flor estaminada).

Se observó una gran diferencia en la intensidad de la tinción, siendo ésta mucho más acentuada en el parénquima secretor que en los otros dos tejidos. La comparación de las características celulares entre los tres tejidos (independientemente de los estadios o tipos florales) arrojó los siguientes resultados: el parénquima no secretor presentó el mayor tamaño celular y nuclear y, contrariamente, los valores más bajos de la relación n/c (Fig. 4). No se encontraron diferencias significativas entre células epidérmicas y parenquimáticas secretoras para ninguno de los tres parámetros mencionados (Fig. 4). El tejido que mayor cantidad de gránulos de almidón por célula contiene es la epidermis, aunque los mismos son de menor tamaño que los que se encuentran en las células del parénquima secretor (Fig. 4).

Al considerar los resultados en conjunto (los tres tejidos), se encontraron correlaciones estadísticamente significativas entre las variables medidas: a) a mayor tamaño celular mayor tamaño nuclear ($r = 0,34$; $P < 0,0001$). Si se analizan los tejidos nectaríferos separadamente, esta correlación general solo se observó en el tejido parenquimático secretor ($r = 0,39$; $P < 0,0001$). Independientemente del análisis realizado, el resto de las correlaciones no arrojaron diferencias significativas.

DISCUSIÓN

Si se considera la distribución de las flores en la planta y características del pedicelo, es posible encontrar un patrón general para las especies rastreras de *Cucurbita*. Es decir, las flores estaminadas poseen pedicelos largos y se hallan en la zona central de la planta, mientras que las pistiladas tienen pedicelos cortos y rígidos y son más abundantes en las terminaciones de las guías vegetativas (Whitaker & Davis, 1962; este trabajo).

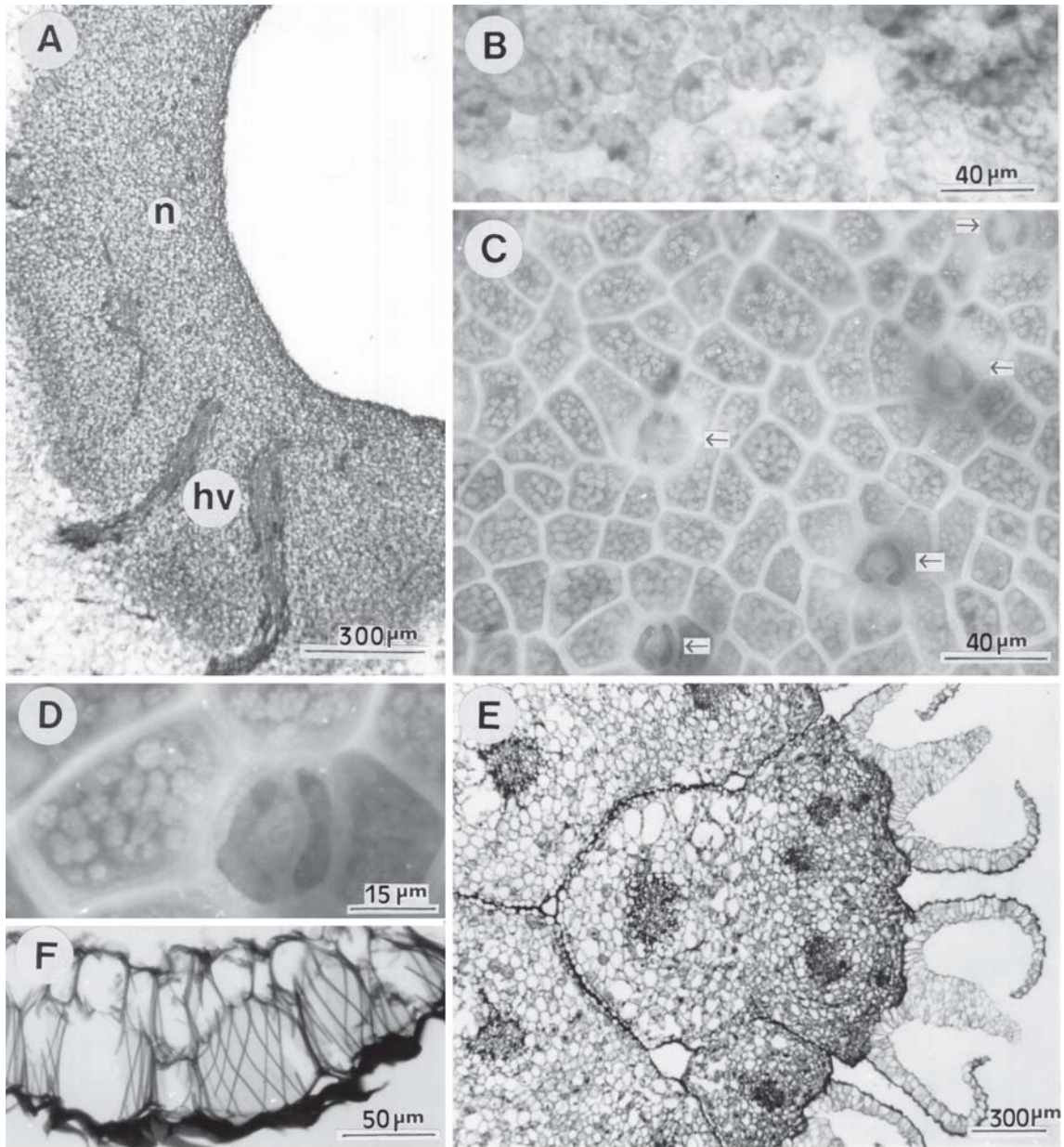


Fig. 3.- Fotomicrografías de cortes histológicos de una flor estaminada de *Cucurbita maxima* subsp. *andreana*. A: sector de un corte longitudinal del nectario donde se observan los haces vasculares. B: detalle del parénquima secretor, obsérvese el gran contenido de gránulos de almidón de las células. C: detalle de la epidermis diafanizada en vista paradermal, obsérvese los estomas (señalados con flechas) y la gran cantidad de gránulos de almidón de las células. D: detalle de un estoma en vista paradermal. E: sector del corte transversal del sinantéreo, se observa una antera dehisciente y algunos haces vasculares. F: sector de la pared de una antera que muestra las células del endotecio y su patrón de engrosamientos. Abreviaturas: hv, hazo vascular; n, nectario; las flechas señalan los estomas. (De CORD 801).

Los eventos climáticos, como lluvias o ausencia de sol, no interfieren con el inicio de la antesis. La dehiscencia de las anteras se produce antes de la apertura de las flores, tanto en *C. maxima* subsp.

andreana como en *C. pepo* (Nepi & Pacini, 1993). Las flores estaminadas y pistiladas de *C. maxima* subsp. *andreana* son semejantes en estructura y color. El tamaño de las flores difiere de un indivi-

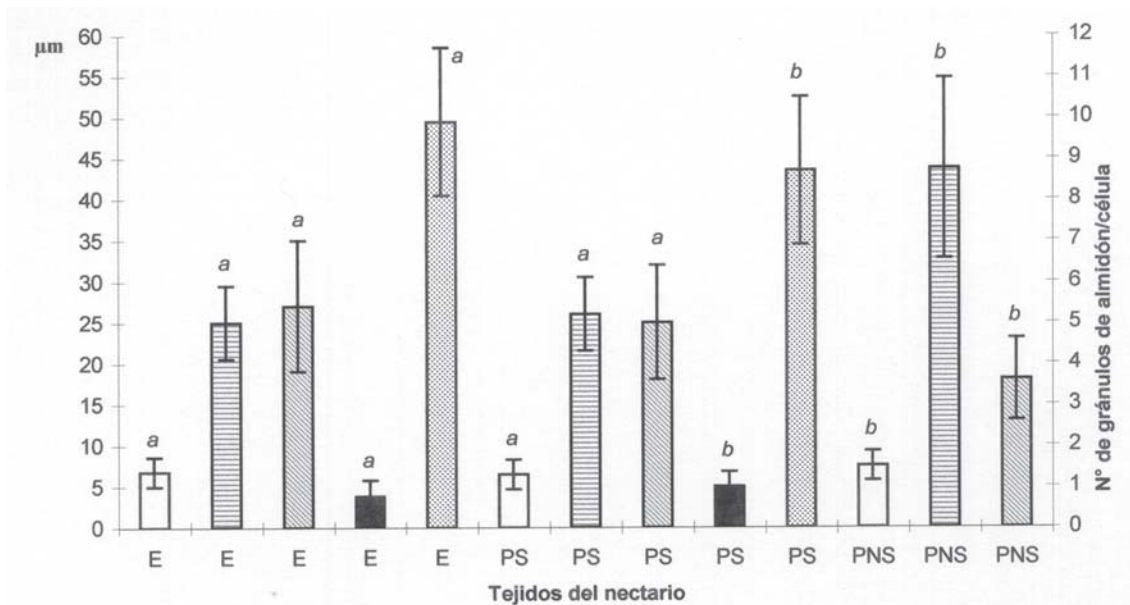


Fig. 4.- Parámetros estructurales relacionados con el desarrollo y la actividad del nectario de las flores de *Cucurbita maxima* subsp. *andreana*. Referencias: tamaño nuclear; tamaño celular; relación tamaño nuclear / tamaño celular (x 100); diámetro de los gránulos de almidón; número de gránulos de almidón / célula. Abreviaturas: E, epidermis; PS, parénquima secretor; PNS, parénquima no secretor. Análisis estadístico entre tejidos: tamaño nuclear: $H= 14,34; P< 0,0002$; tamaño celular: $H= 174,97; P< 0,00001$; relación tamaño núcleo / célula: $H= 89,29; P< 0,00001$; diámetro de los gránulos de almidón: $U=4666; P< 0,00001$; número de gránulos de almidón / célula: $U= 68835,5; P< 0,02$. Las letras sobre las barras indican el resultado de la prueba *a posteriori*, las letras iguales representan diferencias no significativas ($P> 0,05$) para determinado carácter.

duo a otro y el número de pétalos puede variar entre flores de una misma planta, generalmente son cinco, aunque también se observaron flores con cuatro pétalos. Las flores de *C. maxima* subsp. *andreana* poseen en promedio menos óvulos y mayor cantidad de polen que las de *C. pepo* (Nepi & Pacini, 1993).

Si se compara el polen de *C. pepo* (Nepi & Pacini, 1993), *C. maxima* subsp. *maxima* (Tellería, 1995) y *C. maxima* subsp. *andreana*, los granos son semejantes en su forma y en el patrón de distribución de los poros, pero difieren en las ornamentaciones de la exina, ya que *C. maxima* subsp. *andreana* carece de microespinas.

La estructura del nectario presenta variaciones entre las distintas tribus de las Cucurbitoideae. El mismo puede estar constituido por tricomas (por ej. Sicyoeae, Cyclanthereae) o por un tejido nectarífero como en las Cucurbiteae (Vogel, 1997) o Benincaseae (Brown, 1938). Dentro de esta subfamilia y desde el punto de vista evolutivo, los nectarios de origen axial serían ancestrales en rela-

ción con los nectarios tricomatosos (Smets, 1986; Vogel, 1997). Se han investigado algunos géneros de esta subfamilia que presentan tejido nectarífero de origen axial (*Citrullus*, *Cucumis*, *Luffa*, etc.; Brown, 1938), y es coincidente en general con la estructura de los nectarios florales de *Cucurbita* (Nepi et al., 1996; este trabajo).

La posición, estructura, tamaño y citología de los nectarios es semejante entre los dos tipos florales y, a su vez, semejante a lo encontrado para *C. pepo* (Nepi et al., 1996), excepto por pequeñas diferencias en la irrigación vascular, en las características de la epidermis y en la superficie nectarífera. En *C. pepo* la cutícula epidérmica está ausente y el xilema llega sólo hasta la base del tejido secretor (Nepi et al., 1996), mientras que la superficie nectarífera de las flores pistiladas de esta especie supera a la de *C. maxima* subsp. *andreana*. El número de estomas por nectario de *C. maxima* subsp. *andreana* resultó muy inferior (ca. 10 %) a lo encontrado en las flores de *C. pepo* (Nepi et al., 1996), aunque resulta interesante destacar que la proporción encontrada en el

número de estomas entre las flores estaminadas y pistiladas de estos dos taxones fue similar (ca. 1:1,5; Nepi et al., 1996; este trabajo). Las flores pistiladas de *C. maxima* subsp. *andreana* y *C. pepo* secretan un mayor volumen de néctar que las estaminadas (Ashworth, 1997; Nepi et al., 1996), hecho que podría estar relacionado con el tamaño del nectario y con el mayor número de estomas grandes encontrado en las primeras. Éstos son la vía de secreción del néctar en *C. pepo* (Nepi et al., 1996) y, probablemente también, en la especie aquí estudiada.

Si se tienen en cuenta la fenología floral y algunas características citológicas del nectario, los pimpollos presentan mayor cantidad de gránulos de almidón que las flores en anthesis, lo cual estaría indicando que dichos gránulos se acumulan en las células de la epidermis y del parénquima secretor del nectario hasta el momento de la secreción del néctar (30 minutos después del inicio de la anthesis; Ashworth, 1997). Esta especulación se ve apoyada por lo encontrado en *C. pepo*, donde se verificó una acumulación de gránulos de almidón en las células nectaríferas desde 4 días previos a la apertura floral hasta el momento del comienzo de la anthesis, momento en que dichos gránulos comenzaron a disminuir hasta desaparecer completamente hacia el final de la vida de la flor (Nepi et al., 1996). Estas observaciones se podrían relacionar con el patrón de secreción de néctar a lo largo de la vida de la flor y, por lo tanto, con distintas características de la biología reproductiva de la planta, aspectos que serán motivo de una próxima contribución.

AGRADECIMIENTOS

A Raúl Pozner y a un revisor anónimo por sus valiosas correcciones y sugerencias sobre versiones anteriores de este trabajo. A Raúl Pozner y Alejandra Romanutti por facilitarnos bibliografía indispensable. A Carolina Carrizo por su colaboración en la observación de las anteras. Al Consejo de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Provincia de Córdoba, a la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Córdoba y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, por su financiamiento.

BIBLIOGRAFÍA

Ashworth, L. 1997. Estudios sobre la biología reproductiva del zapallo amargo (*Cucurbita andreana*, Cucurbitaceae). Tesina de graduación, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Univ. Nacional de Córdoba, Argentina.

- Bailey, H. L. 1929. The domesticated Cucurbits. *Genes Herb.* 2: 62-113.
- Bemis, W. P., Rhodes, A. M., Whitaker, T. W. & Carmer, S. G. 1970. Numerical taxonomy applied to *Cucurbita* relationships. *Amer. J. Bot.* 57: 404-412.
- Brown, W. H. 1938. The bearing of nectaries on the phylogeny of flowering plants. *Proc. Amer. Philos. Soc.* 79: 549-595.
- Contardi, H. G. 1939. Estudios genéticos en *Cucurbita* y consideraciones agronómicas. *Physis* (Buenos Aires) 48: 331-347.
- Dafni, A. 1992. *Pollination Ecology. A Practical Approach*. Oxford Univ. Press, Oxford.
- Fahn, A. 1953. The topography of nectary in the flower and its phylogenetical trend. *Phytomorphology* 3: 424-426.
- Hunziker, A. T. & Subils, R. 1975. Sobre la importancia taxonómica de los nectarios foliares en especies silvestres y cultivadas de *Cucurbita*. *Kurtziana* 8: 43-47.
- Hurd, P. D., Linsley, E. G. & Whitaker, T. W. 1971. Squash and gourd bees (*Peponapis*, *Xenoglossa*) and the origin of the cultivated *Cucurbita*. *Evolution* 25: 218-234.
- Mabberley, D. J. 1997. *The Plant Book*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Manning, J. C. 1996. Diversity of endothelial patterns, pp 136-158, en: W. G. D'Arcy & R. S. Keating (eds.), *The Anther: form, function and phylogeny*. Cambridge Univ. Press, London.
- Martinez Crovetto, R. 1974. Cucurbitaceae, en A. Burkart (ed.), *Flora Ilustrada de la provincia de Entre Ríos*, Colecc. Ci. Inst. Nac. Tecnol. Agrop. 4: 63-94.
- Millán, R. 1945. Variaciones del zapallito amargo *Cucurbita andreana* y el origen de *Cucurbita maxima*. *Revista Argent. Agron.* 12: 86-93.
- Nee, M. 1990. The domestication of *Cucurbita* (Cucurbitaceae). *Econ. Bot.* 44: 56-68.
- Nepi, M. & Pacini, E. 1993. Pollination, pollen viability and pistil receptivity in *Cucurbita pepo*. *Ann. Bot.* 72: 527-536.
- , — & Willemse, M. T. M. 1996. Nectary biology of *Cucurbita pepo*: ecophysiological aspects. *Acta Bot. Neerl.* 45: 41-44.
- Parodi, L. R. 1935. Relaciones de la agricultura prehispánica con la agricultura argentina actual. *Anales Acad. Nac. Agron.* 1: 115-167.
- Pozner, R. 1998. Cucurbitaceae, en A. T. Hunziker (ed.), *Flora Fanerogámica Argentina* 53: 1-58.
- Sakai, W. S. 1973. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidin blue *O. Stain Technol.* 48: 247-250.
- Smets, E. 1986. Localization and systematic importance of the floral nectaries in the Magnoliatae (Dycotiledons). *Bull. Jard. Bot. Belg.* 56: 51-76.

- Tellería, C. M. 1995. El polen de las mieles del Noroeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Darwiniana* 33: 347-364.
- Vogel, S. 1997. Remarkable nectaries: structure, ecology, and organophyletic perspectives. I. Substitutive nectaries. *Flora* 192: 305-333.
- Waller, D. M. 1988. Plant morphology and reproduction, pp. 203-227, in: J. Lovett Doust & L. Lovett Doust (eds.), *Plant reproductive ecology. Patterns and strategies*. Oxford Univ. Press, New York.
- Whitaker, T.W. 1981. Archeological cucurbits. *Econ. Bot.* 35: 460-466.
- & Bemis, W. P. 1975. Origin and evolution of the cultivated *Cucurbita*. *Bull. Torrey Bot. Club* 102: 362-368.
- & Davis, G. N. 1962. *The cucurbits-Botany, cultivation and utilization*. *World Crops Books*. Leonard Hill Ltd, London.

Original recibido el 29 de diciembre de 1998; aceptado el 28 de septiembre de 1999.