DOCTORADO EN CIENCIAS Y BIOTECNOLOGÍA DE PLANTAS

Fisiología ecológica de plantas CAM en dos habitats de la Península de Yucatán: matorral de duna costera y selva baja caducifolia

> Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias presenta:

MARIA FERNANDA RICALDE PÉREZ

Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Mérida, Yucatán, México 2010

Declaración de Propiedad

Declaro que la información contenida en la sección de Materiales y Métodos Experimentales, los Resultados y Discusión de este documento provienen de las actividades de experimentación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán y que dicha información le pertenece en términos de la ley de propiedad industrial, por lo que no me reservo ningún derecho sobre ello.

and

(Nombre del estudiante)

RECONOCIMIENTOS

Este trabajo se realizó en la Unidad de Recursos Naturales bajo la dirección del Dr. Jose Luis Andrade Torres, del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

El trabajo de campo se realizó en el Parque Nacional de Dzibilchaltún y en la Reserva estatal de Cuxtal.

La preparación de las muestras para el análisis de la composición de los isótopos estables de C (δ^{13} C) se realizaron en el laboratorio Botany & Plant Sciences and for Conservation de la Universidad de California, Riverside.

La determinación de los análisis del $\delta^{13}C$ se realizaron en el Center for Stable Isotope Biogeochemistry (CSIB) de la universidad de California, Berkeley

Este trabajo de investigación fue financiado por lo proyectos del fondo sectorial SEP-CONACYT 488344/24588 y por la beca de doctorado otorgada por el Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT-170688) a Maria Fernanda Ricalde.





DEDICATORIA

A mis padres

Por su ejemplo de lucha y fortaleza. Cada vez los admiro más

A mi abuelita.

Por tu cariño y palabras de aliento cuando siempre las necesito

A mi compañero de vida (Papo)

Por darle un nuevo y diferente sentido a mi vida. Te amo

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor Dr. José Luis Andrade Torres por su asesoría y supervisión

A la asistente de laboratorio Caroline De Van por su ayuda en la extracción de los azúcares

A los técnicos José Luis Simá y Ing Roberth Us por su ayuda en el trabajo de campo y en el invernadero.

Al Dr Roger Orella, a las Dras Luz Maria Calvo, Casandra Reyes, Olivia Hernández, Patricia Colunga e Ivón Ramírez por todo su apoyo académico y moral. Gracias a ustedes me levante de los tropiezos provocados en este doctorado. Nunca olvidaré lo que hicieron por mí y por las mujeres de este instituto

A mis hermanos Angelita, Alfonso y Armando por sacarme adelante siempre que lo necesite para terminar con éxito este doctorado.

A mi nueva familia: Rosi, Julian, Caro, Luís, Don Eduardo y Daña Elo por permitirme ser parte de la linda familia que son, por cuidarme cuando estaba enfermita y por todo sus apoyo moral. Ustedes me ayudaron a dar el último empujón.

A mis amigos del CICY que me apoyaron siempre y sin dudarlo, en especial a: Violeta, Norma, Lupita, Manuel e Isaac. Gracias a ustedes no me sentí sola en los momentos difíciles y pude salir adelante

A todos mis compañeros de la Unidad de Recursos Naturales

Índice

Reconocimientos Dedicatoria Agradecimientos Índice Índice de tablas Índice de figuras Resumen Abstract Lista de abreviaturas	Página I III V VII IX IX XIII XV Xvii
INTORUDCCIÓN Referencias	3
CAPÍTULO I ANTECEDENTES 1.1 Introducción 1.1.1 Metabolismo ácido de las crasuláceas	5 6
 1.1.2 Plasticidad fisiológica en plantas CAM 1.1.3 Control ambiental 1.1.3.1 Agua 1.1.3.2 Luz 1.1.3.3 Temperatura 1.1.3.4 Salinidad 1.1.3.5 Nutrimentos 1.1.3.6 CO₂ 1.2 Justificación 1.3 Objetivo general 1.3.1 Objetivo particular Referencias 	6 8 9 10 11 12 13 15 15 16
CAPÍTULO II ENVIRONMENTAL REGULATION OF CARBON ISOTOPE COMPOSITION ANS CRASSULACEAN ACID METABOLISM IN THREE PLANT COMMUNITIES ALONG WATER AVAILABILITY GRADIENT 2.1 Introduction 2.2 Materials ant methods 2.2.1 Study site and species 2.2.2 Community structure and relative importance value of CAM species	21 22 22 23

2.2.3 Nocturnal tissue acidification 2.2.4 Carbon isotope composition 2.2.5 Statistical analysis	23 24 25
 2.3 Results 2.3.1Relative importance of CAM species 2.3.2 Nocturnal tissue acidification 2.3.3 Carbon isotopic composition of bulk tissue fraction 2.3.4 Carbon isotopic composition of sugar fraction 2.4 Discussion 2.5 Reference 	25 26 28 29 31 35
2.5 1 4 6 6 1 6 6	00
CAPÍTULO III EFECTO DE LAS VARIACIONES ESTACIONALES EN LA FOTOSÍNTESIS Y EL CRECIMIENTO SOBRE EL ÉXITO REPRODUCTIVO DE <i>AGAVE ANGUSTIFOLIA</i> HAW (AGAVACEAE)	
3.1 Introducción	40
3.2 Materiales y Métodos	42
3.2.1 Sitio de estudio	42
3.2.3 Paso saco (PS)	42
3.2.4 Producción relativa de hojas y Tasa de crecimiento	43
relativo (RGR)	10
3.2.5 Acidez titulable	44
3.2.6 Evaluación de la fluorescencia de la clorofila	44
3.2.7 Determinación del potencial hídrico de la planta y	45
del suelo	
3.2.8 Producción de flores y semillas	45
3.2.9 Análisis estadísticos	46
3.3 Resultados	46
3.3.1 Micromabientes de luz	46
3.3.2 Microclima	46
3.3.3 Peso seco y Tasa de crecimiento relativo (RGR)	47
3.3.4 Producción relativa de hojas	48
3.3.5 Acidez titulable	49
3.3.6 Evaluación de la fluorescencia de la clorofila	52
3.3.7 Determinación de potencial hídrico	54
3.4 Discusión	58
3.5 Referencias	65
3.6 Anexos	70
Discusión general	72
Referencias	75
CONCLUSIONES	78

V	TIT	
v	111	

79

PERSPECTIVAS

Índice de tablas

		Página
CAPÍTULO	II	
Tabla 2.1	Seasonal tissue acidity (ΔH^* , mmol H^* m ⁻²) of CAM species growing at 80% and 30% of total daily photon flux density /PFD) in a coastal dune and two tropical deciduous forest	27
CAPITULO	11	
Tabla 3.1	Análisis de varianza de mediciones repetidas de dos vías para el análisis de crecimiento relativo. Los factores son: sitio y luz	70
Tabla 3.2	Análisis de varianza de mediciones repetidas de dos vías para el análisis de producción de hojas. Los factores son: luz y sitio	70
Tabla 3.3	Análisis de varianza de tres vías para el análisis de la acide titulable. Los factores son: sitio, luz y estación	70
	Análisis de varianza de dos vías para el análisis de producción de semillas. Los factores son: sitio y cantidad de luz	71
	Análisis de varianza de dos vías para el análisis de producción de bulbillos. Los factores son: sitio y cantidad de luz	71

Índice de figuras

Página **CAPÍTULO II** Figure 2.1 Relative ecological importance value of CAM 26 species in the coastal dune of San Benito (A) and tropical dry deciduous forest of Dzibilchaltún (B)and Cuxtal (C). Each symbol correspond to a different species in the communities Figure 2.2 Frequency of bulk tissue (A-C) and sugar (D F) 28 ¹³C values for individual of 12 CAM species in the coastal dune of San Benito (A,D) and

- the coastal dune of San Benito (Å,D) and tropical dry deciduous forest of Dzibilchaltún (B. E) and Cuxtal (C,F). Each bar represents 2 ‰ range of δ¹³C
 Figure 2.3 Relationship between bulk tissue (Å) and sugar
- Figure 2.3 Relationship between bulk tissue (A) and sugar (B) δ^{13} C values for Acanthocerus tetragonus

and mean annual rainfall in San Benito (500 mm rainfall), Dzibilchaltún (700mm) and Cuxtal (1000mm). Each point represents a sample for an individual during the rainy season (n = 9).

30

52

- Mean δ^{13} C values (closed symbols) of sugar ± Figure 2.4 standard deviation and range (open symbols) of 10 CAM species. Key for the species code: Acanthocereus tetragonus (At). Agave angustifolia (Aa). Bromelia karatas (Bk). Nopalea inaperta (Ni), Stenocereus eichlamii (Se), Pilosocereus gaumeri (Pg), Pereskiopsis scandens (Ps). Opuntia dillenii (Od). Selenicereus donkelaarii (Sd), and Tillandsia dasvliriifolia (Td).
- **Figure 2.5** Values of δ^{13} C of sugars (A) and tissue acidity (B) in three populations of *Acanthocereus tetragonus* in San Benito (circles), Dzibilchaltún (triangles) and Cuxtal (squares) growing at 80% of total daily photon flux density (PFD) (open symbols) or at 30% total PFD (closed symbols) during the rainy season.
- CAPÍTULO III
- Figura 3.1 Regresión cuadrática entre el tamaño de la hoja 45 y el peso de la misma. n= 319 en selva baja caducifolia y n= 371 en matorral de duna costera.
- Figura 3.2 Curso diario de: (A, D) la temperatura del aire, 49 (B, E) el flujo de fotones para la fotosíntesis y (C, F) déficit de presión de vapor durante las estaciones de sequía (A, B, C) y lluvias (D, E, F)
- Figura 3.3 Distribución del peso seco entre varias partes 50 de la planta. Plantas de selva baja caducifolia n = 11 () y plantas de matorral de duna costera n=8 ()
- Figura 3.4 Precipitación mensual en la selva baja y en el 51 matorral de duna costera (A). Tasa de crecimiento relativo a lo largo de un año en plantas de matorral de duna costera (B) y en plantas de selva baja (C) cuando se encontraban creciendo en dos microambientes de luz: al 80% del FFF y al 30% del FFF. Los valores son la media ±ES, n=10
- Figura 3.5 Producción relativa de hojas en plantas en matorral de duna costera (A y C) y en plantas de selva (B y D) en dos microambientes de luz: 80% del FFF (A y B) y al 30% del FFF (C y D). Los valores son la media ± ES, n= 10

Х

- Figura 3.6 Acidez titulable en individuos de *A.angustifolia* de diferente categoría de peso creciendo en dos microambientes de luz en matorral de duna costera durante la estación de lluvias(A) y durante sequía (C) y en selva baja caducifolia durante lluvias (B) y durante sequía (D). Los valores son la media ± ES. n=10
- Figura 3.7 Respuesta de la eficiencia del PSII (ΦPSII símbolos pequeños y Fv/Fm símbolos grandes, A, B, E y F), y la reducción no fotoquímica (NPQ; C, D, G, H) a lo largo del día en plantas de diferente categoría de peso en matorral de duna costera y en selva baja. .Los símbolos blancos representan las plantas que se encuentran creciendo al 80% del FFF y los símbolos oscuros las plantas que se encuentran creciendo al 30% del FFF. Los valores son la media ±ES, n= 5 por sitio por categoría. Los valores son media ± ES, n=5 por sitio por categoría de peso.
- Curva de luz de la tasa de transporte de 57 Figura 3.8 electrones (ETR) en plantas de A. angustifolia de diferentes categorías de peso creciendo al 80% v al 30% del FFF en matorral duna costera durante la estación de lluvias (A) y durante la estación de seguía (C) y en selva baja durante la temporada de lluvias (B) y durante la temporada de seguía (D).Los símbolos blancos representan las plantas que se encuentran creciendo al 80% del FFF y los símbolos que se encuentran las plantas oscuros creciendo al 30% del FFF. Los valores son la media ±ES, n= 5 por sitio por categoría
- Figura 3.9 Producción de semillas(A y C) y bulbillos (B y D) en plantas de A. angustifolia de diferente categoría de peso en el matorral de duna costera (A y B) y selva baja (C y D) creciendo en dos microambientes de luz

58

XI

53

56

Resumen

La extensión de la actividad de las plantas con metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) es muy variable entre taxas y sensible a condiciones ambiéntales. En el presente trabajo se comparó el comportamiento de la actividad CAM de varias especies a lo largo de un gradiente de precipitación (500, 700 y 1000mm) en el norte del Estado de Yucatán. El objetivo fue generar información sobre los cambios en la proporción de CO₂ fijado durante la noche y durante el día mediante la determinación de la composición isotópica de carbono (δ^{13} C), junto con mediciones de acidez tisular en especies CAM. Un segundo estudio fue sobre los requerimientos ambientales para la asimilación de CO₂, crecimiento y reproducción de Agave angustifolia en diferentes ambientes lumínicos y en dos comunidades con diferente tipo de vegetación. Los resultados indicaron que la actividad CAM se incrementó en los sitios más secos (valores de 813C más cercanos a cero) y la ganancia de carbono de las especies CAM a lo largo del gradiente de aridez fue mayor durante la estación de lluvias. Las especies incrementaron su acidificación a altas intensidades lumínicas en los sitios con mayor precipitación. En A. angustifolia la ganancia de carbono. la tasa de crecimiento relativo y la capacidad reproductiva fueron mayores en la selva baja caducifolia. En conclusión, las especies CAM capaces de ocupar más ambientes fueron aquellas con la mayor variabilidad en los valores de δ^{13} C (Acanthocereus tetragonus y Agave angustifolia) pero la mayor disponibilidad de agua en el suelo fomenta un mayor crecimiento, especialmente en sitios más expuestos.

Abstract

The extension of activity of plants with crassulacean acid metabolism is very variably between taxa and it's sensitive to environmental conditions. In this study there was compared the behavior of CAM activity of several species a long of a precipitation gradient (500, 700 and 1000mm) in the north of Yucatan State. The aim was generated information abut the changes in the proportion o CO₂ fixed during the night and during the day by means of determination of carbon isotopic composition (δ^{13} C). together with measurement of tissue acidity in CAM species. A second study was about the environmental request to CO₂ assimilation, growth and reproduction of Agave angustifolia in different light environments and in two communities with different type of vegetation. The results indicated that the CAM activity increase in the driest site (δ^{13} C values more close to zero) and the carbon gain of CAM species along this gradient of dryness was greatest in the wet season. The species increased this acidification to high intensities in the sites with great precipitation. In A. angustifolia the carbon gain, relative growth rate and reproductive ability were great in the tropical deciduous forest. In conclusion, the CAM species able of take more environments were those with the great variability in the d13C values (Acanthocereus tetragonus v Acave angustifolia) but the great availability of water in the soil promote a great growth, specially in the most exposed sites.

Lista de abreviaturas

CAM	Metabolismo ácido de las crasuláceas
C3	Ruta fotosintética en donde el primer compuesto que se detecta durante el proceso de la fotosíntesis es un compuesto de tres carbonos, el ácido 3 - fosfoglicérico (PGA)
C4	Ruta fotosintética en donde el primer compuesto que se detecta durante el proceso de la fotosíntesis es un compuestote cuatro carbonos, el oxalacetato convertido posteriormente en malato
13C	Isótopo de carbono 13
D	Matorral de duna costera
∆H⁺	Acidificación tisular nocturna
$\delta^{13}C$	Composición isotópica de carbono
δe	Déficit de presión de vapor
EE	Error Estándar
ETR	Tasa de transporte de electrones
FFF	Flujo de fotones para la fotosíntesis
F√F _m	Eficiencia cuántica máxima del fotosistema II
ΦPSII	Eficiencia cuántica potencial del fotosistema II
н⁺	lon de hidrógeno
NPQ	Eficiencia no fotoquímica
NS	No significativo
PEPc	Fosfoenolpiruvato carboxilasa
PFD	Photon flux density
PS	Peso seco
RGR	Tasa de crecimiento relativo

- RIV Relative importance value
- RUBISCO ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa.
- SBM Selva baja caducifolia
- SMB Selva mediada subcaducifolia
- Ψ_{hoja} Potencial hídrico de la hoja
- Ψ_{suelo} Potencial hídrico del suelo

X

Introducción

Las plantas pueden exhibir una gran variación intraespecífica en las características fisiológicas, consideradas como todos los aspectos de asimilación y utilización de recursos, debido a diferencias en el genotipo, en la heterogeneidad ambiental o en el estado de desarrollo (Ackerly *et al.* 2000; Zotz, 2000). Esta diversidad fisiológica es la base de la variación en las tasas de crecimiento, en la productividad y en las dinámicas poblacionales y por lo tanto, ejerce una influencia sobre la adecuación, la cual se define como la contribución proporcional de los individuos para dejar descendencia a las siguientes generaciones (Begon *et al.*, 1999).

Las plantas con metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) exhiben una amplia plasticidad fotosintética. En general, la asimilación neta de CO₂ en CAM ocurre durante la noche, mediante la enzima fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPc), la cual forma ácidos de cuatro carbonos que son acumulados en la vacuola. Al día siguiente estos ácidos son descarboxilados en el citosol y el CO2 liberado es re-fijado por la enzima Ribulosa 1.5 bifosfato carboxilasa/oxidasa (RUBISCO). Factores genéticos, ontogenéticos y ambientales como la intensidad de la luz, la humedad relativa y la disponibilidad de aqua determinan extensión en la cual CAM es expresado, es decir la proporción de CO2 fijado vía CAM o vía C3 (Cushman & Borland, 2001, Holtum, 2002). La plasticidad en la expresión de CAM se encuentra dentro y entre especies, y se puede ilustrar por una diversidad de patrones de intercambio gaseoso desde un rango de:1) asimilación diurna de CO2 con re-fijación del CO₂ respirado en la noche (CAM cíclica), 2) asimilación neta continua de CO2 en las 24 h (C3-CAM); 3) asimilación neta de CO₂ en la noche, con pulsos de asimilación al inicio y al final del fotoperiodo (CAM clásica): 4) no hav asimilación neta de CO₂, pero si un reciclamiento del CO2 respirado (CAM reducida: Cushman, 2001: Tavbi et al., 2002; Holtum, 2002). El subsecuente balance entre la asimilación vía RUBISCO v vía PEPc podría conferirle a las plantas CAM una ventaja ecológica para el crecimiento y supervivencia bajo condiciones ambientales cambiantes y adversas al optimizar diariamente y estacionalmente la asimilación neta de CO₂ (en términos de pérdida de agua, Taybi et al., 2002).

A pesar de que la mayor diversidad de especies con metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) se encuentra en los trópicos y subtrópicos, existen muy pocos estudios sobre la fisiología ecológica *in situ* de plantas tropicales CAM que se encuentren creciendo en ambientes contrastantes a lo largo del año y bajo condiciones naturales (Cervantes *et al*, 2005, Cervera *et al* 2006). Tampoco se conocen las implicaciones ecológicas de los patrones de respuesta de plantas CAM a través de un rango de hábitats y microambientes. El estudio de especies CAM con una distribución amplia ayudaría a dilucidar dichas implicaciones. En el presente trabajo diferentes características fisioecológicas fueron estudiadas en especies CAM a lo largo de un gradiente de precipitación. La información se obtuvo para responder las siguientes preguntas:

¿Cuál es la importancia ecológica de las especies CAM en los diferentes ambientes a los largo de ese gradiente? ¿cuál es la extensión y el grado de actividad CAM a lo largo del gradiente de precipitación? ¿la plasticidad fotosintética de CAM es un factor importante en la distribución y frecuencia de las especies CAM? ¿cuál es la especie con la mayor contribución ecológica a la comunidad a lo largo del gradiente de precipitación? Para dicha especie ¿cuál es la plasticidad en la actividad CAM? ¿cuáles son los requerimientos ambientales para su crecimiento? y ¿cómo afectan en su reproducción los cambios en la fotosíntesis y el crecimiento?

En el presente trabajo se demostró que la plasticidad de la actividad CAM es importante para determinar el desempeño fisiológico y ecológico de especies con actividad CAM. A pesar de que la actividad CAM mostró un incremento en los sitios más secos, las especies CAM con la mayor plasticidad fueron capaces de responder a cambios en el amiente y de habitar un mayor número de ambientes que las especies con una menor plasticidad. Una de dichas especies fue *Agave angustifolia* Haw que presentó los valores de importancia más altos a lo largo del gradiente de precipitación y presentó una gran tolerancia a la sequía.

REFERENCIAS

- Acevedo E, I. Badilla and P.S Nobel (1983). Water relations, diurnal acidity changes, and productivity of a cultivated cactus, Opuntia ficus-indica. Plant Physiology 7, 775-780.
- Ackerly, D.D., S.A. Dudley, S.E. Sultan, J. Schmitt, J.S. Coleman, C.R. Linder, D.R. Sandquist, M.A. Gerber, A.S. Evans, T.E. Dawson and M. J. Lechowicz (2000). *The evolution of plant ecophysiogical traits: Recent advances and future directions.* BioScience 50, 979-995
- Begon, M., J.L. Harper and C.R. Towsend (1996). *Ecology individuals* populations an communities. Blackwell Publishers company.
- Cervantes, E.S., E.A. Graham and J.L. Andrade (2005). Light microhabitats, growth and photosynthesis of an epiphytic bromeliad in a tropical dry forest. Plant Ecology, 179, 107-118
- Cervera JC, JL. Andrade., EA. Graham., R Durán., PC. Jackson. and JL Simá (2007). *Photosynthesis and optimal light microhabitats for rare cactus, Mammillaria gaumeri, in two tropical ecosystems.* Biotropica, 39, 620-627
- Cushman, J.C (2001). Crassulacean acid metabolism. A plastic Photosynthetic adaptation to arid environment. Plant Physiolology., 127, 1439-1448.
- Cushman, J.C., A.M. Borland (2001). Induction of crassulacean acid metabolism by water limitation. Plant. Cell. Environment. 25: 295-310
- Farris, M. and M.J. Lechowicz (1990). Functional interactions among traits that determine reproduction success in native annual plant. Ecology, 7, 548-557
- Lambers, H. F.S. Chapin III, and T.L. Pons (1998). *Plant Physiology Ecology.* Springer.
- McIntosh, M.E (2002). Plant size, breeding system, and limits to reproductive success in two sister species or Ferocactus (Cactaceae). Plant Ecology, 162, 273-288.
- Nobel, P.S (1985a). PAR, water, and temperature limitations on the productivity of cultivated Agave fourcroydes (Henequen). J of Applied Ecololgy, 22, 157-173.
- Nobel, P.S (1985b). Water relations and carbon dioxide uptake of Agave deserti special adaptation to desert climates. Desert Plant, 7, 51-56
- Ravetta, D.A. and S.P. McLaughlin (1996). Ecophysiological studies in Hesperaloe funifera (Agavaceae): a potential new CAM crop. Seasonal patterns of photosynthesis. Journal of Arid Environments, 33: 211-223
- Sarukhán, J., M. Martínez-Ramos and D. Piñero (1984). "The analysis of demographic variability at the individual level and its population consequences". In *Perspectives in plant population ecology*, Dirzo, R. y M. Sarukán (ed). Sinauer, Sunderland, Masschusetts, USA

- Williams, D.G., R.N. Mack and R.A. Black (1995). Ecophysiology of introduced Pennisetum setaceum on Hawaii: The role of phenotypic plasticity. Ecology, 76, 1569-1580
- Zotz, G (2000). Size-related intraspecific variability in physiological traits of vascular epiphytes and its importance for plant physiological ecology. Perspectives in Plant Ecology, Evolution ands Systematics, 3(1), 19-28

Capitulo I

Antecedentes

1.1 INTRODUCCIÓN

Las plantas exhiben una enorme diversidad morfológica v funcional, las cuales son las bases de la variación en sus tasas de crecimiento, su productividad y su dinámica poblacional. Estas variaciones presentan una clara congruencia con las condiciones ambientales a nivel local, regional y global (Ackerly et al. 2000). La fisiología ecológica vegetal se enfoca en las propiedades morfológicas v fisiológicas de una especie en el contexto de su ambiente natural, lo que contribuye a entender cómo los procesos fisiológicos afectan a la supervivencia, el crecimiento, la reproducción y por lo tanto a la adecuación de los individuos baio las condiciones particulares del hábitat donde crecen (Lambers et al., 1998; Zotz, 2000); entendida ésta como la contribución relativa que un individuo hace a las siguientes generaciones. Los individuos con una mayor adecuación en una población son aquellos que dejan el mayor número de descendientes en relación al número de descendientes dejados por otros, los individuos menos aptos en la población. Es de esperar que aquellos individuos que dejan la mayor proporción de descendientes en una población tengan la mayor influencia sobre las características heredables de dicha población (Begon et al. 1996).

Las aproximaciones de la fisiología ecológica han resultado ser una herramienta muy poderosa en algunos casos. Por ejemplo, para ciertos cultivos con metabolismo ácido de las crasuláceas se ha llegado a un entendimiento detallado acerca de los efectos de la variación en la luz, la temperatura y la humedad del suelo sobre las tasas de asimilación de carbono. lo que ha permitido modelar su productividad baio diferentes escenarios (Acevedo, et al., 1983; Nobel, 1985a y b; Ravetta & McLaughlin, 1996). También se ha podido determinar que características fisio-ecológicas -consideradas como todos los aspectos de captura y utilización de recursos, asignación de nutrimentos y biomasa, la estructura y función foliar, así como la estructura de la copa v el crecimiento- afectan la adecuación de ciertas especies en ambientes contrastantes. Por ejemplo, en ambientes con alta disponibilidad de agua, los individuos de Cakile endentula (Bigel) con hojas grandes y con una eficiencia de uso de agua intermedia presentan una alta adecuación. En cambio en ambientes con escasa disponibilidad de agua, la mayor adecuación se presenta en los individuos con hojas pequeñas y con una alta eficiencia de uso de agua (Dudley, 1996). Existen pocos estudios sobre la fisiología ecológica in situ de plantas con metabolismo ácido de las crasuláceas que se encuentren creciendo en diferentes ambientes, tanto espacial como temporalmente, por lo que no hemos avocado en esta tesis al estudio de algunas especies en comunidades con diferente grado de disponibilidad de agua y en particular de una de ellas, *Agave angustifolia*, en diferentes estaciones del año e incluyendo los aspectos reproductivos de esta última especie, para conocer algunos aspectos de la adecuación

1.1.1 Metabolismo ácido de las crasuláceas

El metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM por sus siglas en inglés) es una de las tres rutas metabólicas que se encuentran en las plantas vasculares para la asimilación de carbono atmosférico. En contraste con las plantas con fotosíntesis C_3 y C_4 , las plantas con fotosíntesis CAM abren sus estomas y toman el CO_2 de la atmósfera principalmente durante la noche, mejorando la habilidad de las plantas de adquirir el carbono en ambientes con limitada disponibilidad de agua y CO_2 (Cushman, 2001). Aproximadamente 7% de las plantas vasculares presentan la fotosíntesis CAM, un porcentaje mayor que el de las plantas con la fotosíntesis C₄ (Nobel, 1991; Winter & Smith, 1996).

En la fotosíntesis CAM la captura de CO₂ en la noche es enzima fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPcatalizada por la carboxilasa). El CO₂ fijado es acumulado en forma de ácido málico en la vacuola de la célula (fase I según Osmond, 1978). Al amanecer (fase II), tanto la PEP-carboxilasa y la ribulosa bifosfato carboxilasa (RUBISCO) estan activas y el malato es liberado de la vacuola. Durante el resto del día (fase III) los estomas están cerrados, el ácido málico es descarboxilado y el CO₂ liberado es fijado en los cloroplastos por la RUBISCO. Al finale del periodo de luz (fase IV) conforme el malato se ha agotado, y por lo tanto la disponibilidad del CO2 intercelular disminuye, los estomas se abren y ocurre la asimilación de CO2 principalmente por RUBISCO aunque PEP-carboxilasa puede llegar a ser activo antes del final del periodo luz. La proporción de CO₂ fijado vía PEP-carboxilasa en la noche o durante el día por RUBISCO (la asimilación neta de CO2) es dictado por la integración del comportamiento estomático, fluctuaciones en la acumulación en los ácidos orgánicos y carbohidratos almacenados, y en la abundancia y actividad de las enzimas carboxilantes y descarboxilantes (Cushman, 2001).

Existen variaciones de la expresión de estas fases de CAM, como diferentes descaboxilasas durante el día, la acumulación de ácido cítrico además de málico, o diferentes precursores de PEP-carboxilasa (Winter & Smith, 1996). Sin embargo, es en la respuesta ambiental donde CAM presenta una mayor variación en la amplitud de las diferentes fases de este metabolismo, lo que hace difícil una definición de la fotosíntesis CAM (Holtum, 2002; Lüttge, 2004).

1.1.2 Plasticidad fisiológica en plantas CAM

La plasticidad en la expresión de CAM se encuentra dentro y entre especies, y se puede ilustrar por una diversidad de patrones de intercambio gaseoso que va desde C₃, CAM débil hasta CAM fuerte. En general, se pueden distinguir cuatro formas de CAM. Estas pueden ser restringidas a especies en particular, lo que constituye diferentes fisiotipos de CAM y también pueden expresarse temporalmente en una especie dada dependiendo de su estado de desarrollo, de la influencia ambiental o de ambos (Cushman, 2001; Cushman & Borland, 2002). Las cuatro formas de CAM se describen a continuación:

1) Plantas CAM-cíclicas, en las cuales los estomas permanecen cerrados durante la noche y asimilan el CO₂ durante el día, sin embargo el CO₂ respirado en la noche es re-fijado por PEP-carboxilasa (Cushman & Borland, 2002). En especies que crecen en suelos delgados o rocosos, la recaptura nocturna del CO₂ respirado ayuda a mantener un balance positivo de carbono durante los episodios de sequía (Cushman, 2001), por ejemplo en *Talinum calycinum* Engelm el presentar CAM-cíclica reduce la pérdida de agua en un 44% (Harris & Martin, 1991).

2) Plantas C₃-CAM intermedias o facultativas se caracterizan por fijar CO₂ durante el día con RUBISCO y durante la noche con PEPcarboxilasa (Cushman, 2001; Taybi *et al*, 2002, Cushman & Borland, 2002). La transición C₃-CAM es benéfica para las plantas cuando se encuentran bajo estrés hídrico y a altas temperaturas, porque el cierre diurno de los estomas evita la pérdida de agua y protege la integridad del aparato fotosintético (Winter & Zeigler, 1992). En el caso contrario cuando existe disponibilidad de agua, las plantas que pasan de fotosíntesis CAM a fotosíntesis C₃ pueden abrir sus estomas durante el día lo que garantiza una mayor asimilación de CO₂ (Andrade, *et al*, 2007). Existe al menos un género que presenta especies C₄ que pueden cambiar del modo C₄ a CAM cuando se encuentran en condiciones de estrés hídrico: *Portulaca* L. (Mazen, 1996).

3) Plantas CAM obligadas o constitutivas en las cuales la asimilación neta de CO_2 es en la noche, con pulsos de asimilación al inicio y al final del fotoperiodo (CAM clásica, Cushman, 2001).

4) Las CAM reducidas en donde no se presenta asimilación neta de CO_2 , los estomas permanecen cerrados día y noche pero si hay un reciclamiento del CO_2 respirado. Se presenta en algunas especies cuando la sequía es severa (Cushman, 2001; Taybi *et al.*, 2002). Mediciones de la fluorescencia indican que el fotosistema de estas CAM permanece intacto durante la sequía severa, por lo que se ha sugerido que las CAM reducidas previenen el fotodaño al recapturar el CO_2 respirado (Lambers, *et al.*, 1998).

La mayoría de los estudios realizados sobre plasticidad de la expresión que puede presentar las plantas CAM han sido bajo condiciones controladas (Borland *et al.*,1994) Dood *et al.*,2002; Winter & Holtum, 2002; Winter *et al.*, 2008). Probablemente el significado ecológico de la plasticidad de las plantas CAM depende de su importancia relativa como mecanismo de supervivencia comparado con su contribución directa al crecimiento y productividad. Se ha sugerido que el subsecuente balance entre la fotosíntesis C₃ y CAM optimiza la asimilación diaria y estacional del CO₂, en términos de asimilación de agua, y así asegura el crecimiento y la supervivencia bajo condiciones ambientales cambiantes y adversas (Taybi *et al.*, 2002).

1.1.3 Control ambiental de la expresión CAM

Seis factores ambientales han sido reconocidos como los más importantes para la expresión de CAM: el agua, la luz, la temperatura, la salinidad, los nutrimentos y el CO₂ (Lüttge, 2004). Estos factores están directa o indirectamente relacionados, lo que significa que un factor puede afectar la expresión de otro.

1.1.3.1 Agua

El mayor beneficio de CAM es que incrementa la eficiencia de uso de agua debido a la apertura estomática durante la noche lo que disminuye la pérdida de agua por transpiración que ocurriría si los abriera durante el día (Nobel, 1988; Medina *et al.*, 1989) Sin embargo, uno de los principales factores en la inducción y modulación de la expresión de CAM es el déficit hídrico. Muchas especies facultativas como es el caso de *Clusia minor* L, pueden cambiar rápidamente de la vía fotosintética C₃ a la vía CAM en respuesta a 1 o 2 días de sequía (Borland *et al* 1992; Cushmand & Borland, 2002; Winter *et al.*, 2008). En muchas CAM obligadas la magnitud de la fase II y IV de CAM disminuye o incluso éstas pueden desaparecer bajo estrés hídrico (Grifftiths, 1992), mientras que las especies CAM reducidas pueden responder a la sequía severa cerrando sus estomas todo el día (Taybi *et al.* 2002).

Se ha reportado que las especies CAM más suculentas y con mayor capacidad de almacenamiento de agua pueden mantener sus estomas abiertos por más tiempo y mantener un balance positivo de carbono, aún después de 30 días de sequía (Nobel, 1988). En *Opuntia ficus-indica* L (Mill) no se observan cambios en la asimilación neta de CO_2 después de 7 días de sequía debido al agua almacenada en los cladodios, en tanto que para *Ferocactus acanthodes* (Lem) Britton & Rose, que presenta una mayor suculencia que *O. ficus-indica*, 14 días son necesarios para observar cambios en la asimilación de CO_2 (Nobel & Hartsock, 1984; Nobel, 1988; Nobel & Bobich, 2002).

Sin embargo, a pesar de que en *O. ficus-indica* después de 50 días de sequía la asimilación neta de CO_2 es de cero, la acumulación de

acidez tisular en la noche se encuentra al 40% de la máxima (CAM reducida; Acevedo *et al.*, 1983), lo que permite el movimiento del agua del tejido de almacén al fotosintético debido a que los ácidos orgánicos acumulados en la vacuola son osmóticamente activos (Goldtein & Nobel, 1991). El incremento del potencial osmótico conlleva a la asimilación de agua hacia las células, lo cual es asociado con el incremento en la presión de turgor. Esto permite adquisición extra de agua cuando el potencial hídrico del suelo es bajo. Este efecto se ha demostrado en varias especies CAM: *O. ficus-indica* (CAM constitutiva; Goldstein & Nobel, 1991), *Sempervivum montanum* L (CAM clásica) y *Sedum album* L (C₃-CAM; Earnshaw *et al.*, 1985), *Agave deserti* Engelm(C₃-CAM; Smith *et al.*, 1987).

1.1.3.2 Luz

Tanto la cantidad como la calidad de la luz son importantes para modular la expresión de CAM (Taybi *et al.*, 2002). La intensidad del flujo de fotones para la fotosíntesis (FFF) durante el día (fase III) determina el grado de acumulación de ácidos orgánicos (malato y cítrico) durante el subsiguiente período de oscuridad así como la tasa de movilización de los ácidos orgánicos desde la vacuola (Nobel & Hartsock, 1983; Nobel, 1988). Sin embargo, es difícil separar los efectos del ambiente lumínico de los efectos de la disponibilidad de agua debido a que la adaptación al exceso de luz se correlaciona con el de la sequía

La fotosíntesis CAM es energéticamente menos eficiente que la fotosíntesis C₃ (estimaciones esteguiométricas del ATP:NADPH:CO₂ son de 3 : 2: 1 para la fotosíntesis C₃ y de 4.8 :3.2 :1 para CAM con oscilaciones de malato, y de 5.9 :3.9: 1 para CAM con oscilaciones de malato y citrato; Nobel, 1991; Winter & Smith, 1996), y se supone que es menos eficiente en sitios donde la disponibilidad de luz es un factor limitante. Para cinco especies de agaves y ocho especies de cactáceas la máxima asimilación nocturna de CO2 y la máxima acumulación nocturna de ácidos se presentó a un FFF total diario de 30 mol m⁻² d⁻¹ y una reducción en esta FFF reduce la asimilación neta de CO₂ (Nobel. 1988). En el cactus hemiepifito Hylocereus undatus (Haw) Britton & Rose, por otro lado, la máxima asimilación neta de CO2 se presentó a 20 mol m⁻² d⁻¹ (Raveh et al, 1998; Nobel & Bobich, 2002). Sin embargo, aunque la frecuencia de las plantas CAM está positivamente correlacionada con la exposición de luz y la menor disponibilidad de agua dentro del bosque y a lo largo de diferentes regiones geográficas (Zotz & Hietz, 2001), se ha documentado que plantas CAM adaptadas a la sombra pueden responder más rápidamente a los haces de luz que plantas vecinas C₃ (Skillman et al., 1999).

El exceso de FFF disminuye la asimilación de CO₂, debido al exceso de irradiación del aparato fotosintético (Nobel, 1998 Lu *et al* 2003). Aunque la fotoinhibición crónica es poco común en CAM, la fotoinhibición dinámica, la cual resulta en una disminución temporal de

la eficiencia fotosintética debido a la disipación deficiente del exceso de energía, es común, durante la temporada de sequía y cuando los niveles de CO_2 endógeno son bajos (Nobel & Bobich, 2002). En *Tillandsia brachycaulos* Schltd el mayor decremento en la eficiencia máxima del fotosistema II, el cual es un buen indicador del desempeño fotosintético, ocurre en los individuos más expuestos con estrés hídrico (Cervantes *et al*, 2005). Resultados similares obtuvieron Hernández-González & Briones (2007) en cinco especies de cactáceas columnares. Por otro lado, altas intensidades de luz pueden provocar la expresión de CAM en especies C₃-CAM intermedias, tales como *Guzmania monostachia* (L) Rugby ex Mez (Maxwell, 2002) y *Clusia minor* (Winter *et al* 1992; Borland & Griftiths, 1997).

Cambios en la longitud del fotoperíodo también puede resultar en la inducción de CAM. En *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln un cambio en la longitud del fotoperiodo (de un fotoperido de 16 h de luz a uno de 8 h) indujo el cambio gradual de C₃ a CAM (Taybi *et al* 2002, Luttge, 2004). En cambio, los fotoperíodos de dias largos inducen la expresión de CAM en *O. ficus-indica* (Nobel, 1989). El efecto de la luz sobre la inducción de CAM podría estar mediado a través del fitocromo (Taybi *et al* 2002, Luttge, 2004). Las implicaciones del fitocromo en la inducción de CAM está apoyado por el hecho que la proporción de rojo: rojo lejano de la luz causa un incremento en la actividad de PEP-carboxilasa y en el fitocromo lo que resulta en un incremento en la acumulación nocturna de malato (Cockburn *et al.*, 1996).

1.1.3.3 Temperatura

La temperatura determina el desempeño de CAM interactuando con la actividad de las enzimas, en las membranas, en el movimiento estomático y en la actividad respiratoria (Lüttge, 2004). La temperatura comúnmente no es un factor contundente por si mismo en el desempeño de CAM, sin embargo modula el impacto de otros factores (Nobel, 1996).

La diferencia diurna/nocturna en la temperatura ha demostrado jugar un papel importante en controlar la expresión CAM tanto en especies constitutivas como facultativas (Nobel, 1988). Por ejemplo en *Clusia mino*r el patrón de intercambio gaseoso típico de una C₃ ocurre cuando las plantas están creciendo bajo temperaturas constantes en el rango de 20-30 °C. Sin embargo, se observó acumulación nocturna significativa de malato cuando las temperatura nocturna fue menor, la expresión de CAM fue máxima a temperaturas diurnas/nocturnas de 30/15 °C (Haag-Kerwer *et al.*, 1992). En cambio, las bajas temperaturas inducen el cambio de CAM a C₃ en *Kalanchoe daigremontiana* (Raym) Hament & H. Perrier(Lüttge, 2004).En *Plectranthus marrubiodes* J.K Morton al eliminar las diferencias en la temperatura diurna/nocturna cambia de ser una CAM clásica a una CAM cíclica (Herppich *et al.*, 1998).

Las máximas tasas de asimilación neta de CO₂ para CAM ocurren cuando la temperatura diurna/nocturna se encuentra cerca de la media anual observada en los hábitats nativos de las especies. Por ejemplo, para *Agave. deserti* la asimilación neta de CO₂ es máxima cuando crece a temperaturas diurnas/nocturnas de 25/15 °C disminuyendo en un 35% a 15/5 °C y a un 60% a 40/30 °C (Nobel, 1988; Nobel & Bobich, 2002).

1.1.3.4. Salinidad

El principal efecto de la salinidad es el estrés osmótico, por lo que está íntimamente relacionado con el estrés hídrico. Considerando que CAM es una adaptación fotosintética al estrés hídrico, se podría esperar que CAM fuera una característica de las plantas halófitas. Sin embargo, en general, las halófitas no son CAM y las CAM no son halófitas (Taybi *et al*, 2002; Luttge 2004). La mayoría de especies CAM incluyendo suculentas del desierto son altamente sensibles a la concentración de sal presente en el suelo (Nobel, 1983).

Se ha reportado que las especies CAM que habitan ecosistemas salinos, están expuestas a condiciones de alta salinidad en el suelo sólo durante la temporada de sequía y el resto del año, la precipitación evita el estrés hídrico por salinidad (Medina *et al*, 1989; Luttge *et al*, 1989). Ciertas especies CAM presentan mecanismos que les permiten sobrevivir en suelos temporalmente salinos como la exclusión de sal a nivel de raíz. *Cereus validus* Haw al encontrarse creciendo a altas concentraciones NaCl presenta una retención de iones y un transporte selectivo de los mismos a través de la raíz, además que la contribución del CO₂ reciclado internamente incrementa un 50%, lo que incrementa la presión osmótica de las células. (Nobel *et al* 1984; Luttge 1993).

Un caso excepcional es el de *Mesembrianthemun crystallinum* Spreng la cual es una especie halófita CAM facultativa. Esta especie presenta fotosíntesis C_3 durante los primeros estados de desarrollo si crece en suelos con poca salinidad. Aunque cambia gradualmente a CAM a lo largo de su desarrollo, incluso si continúa creciendo en suelos con baja salinidad, sin embargo, la alta salinidad induce rápidamente a CAM en las plantas jóvenes (Luttge, 1993).

1.1.3.5 Nutrimentos

Los niveles de nutrimentos y la respuesta de los elementos han sido estudiados en plantas suculentas CAM del desierto (Nobel, 1983; Nobel y Bobich, 2002). En el clorénquima de cactáceas y agaves cultivados, los niveles de Ca, Mg y Mn tienden a ser mayores que en la mayoría de las plantas cultivadas. Junto con el K⁺, Na⁺ y Mg²⁺, el Ca²⁺ funciona como un contra-ión para el origen de carboxilatos, los cuales no oscilan durante el día y se piensa que ayuda en la estabilización osmótica (Luttge, 2004). Se ha predicho que las especies CAM podrían necesitar menos N que las plantas C₃, y tener una mayor eficiencia de uso de nitrógeno (Griffiths, 1989). Las deficiencias de nitrato y fosfato tienen un efecto positivo sobre la expresión de CAM en *Mesembrianthemum. crytallinum* (Paul y Cockburn, 1990) y la deficiencia de N tiene un efecto positivo sobre el desempeño en *Kalanchoe. blossfeldiana* (Ota *et al.* 1988). Es importante considerar el factor N en relación a la acción de otros factores, especialmente la luz y el agua. Generalmente, el contenido de clorofila, las tasas fotosintéticas y la eficiencia del fotosistema II disminuyen bajo limitaciones de N (Luttge, 2004).

1.1.3.6 CO2

Los tejidos de plantas CAM presentan altas concentraciones internas de CO_2 lo cual es un beneficio a bajas concentraciones atmosférica de CO_2 . Por lo que se podría esperar que un incremento en el CO_2 atmosférico disminuyera la ventaja de CAM en dichos ambientes. Sin embargo, algunos estudios han demostrado un incremento en el crecimiento y estimulación de especies CAM a concentraciones elevadas de CO_2 . Cuatro especies de cactáceas (*Ferocactus acanthodes, Hylocereus undatus, Stenocereus queretaroensis* (F.A.C Weber) Buxb y *O. ficus-indica*) expuestas a concentraciones dobles de CO_2 de la concentración actual han mostrado un incremento tanto en la asimilación neta de CO_2 como en la productividad de biomasa (Nobel & Bobich, 2002) Sin embargo en *Agave vilmoriniana* A. Berger (Szarek *et al*, 1987) no hubo un efecto significativo al incremento del CO_2 atmosférico.

1.2 JUSTIFICACIÓN

México posee quizás la mayor diversidad de plantas CAM del mundo y esto se debe a que es el centro de diversificación de las cactáceas y las agaváceas, cuyos miembros son mayoritariamente CAM. Por otro lado, el mayor número de especies CAM se encuentra en los trópicos y subtrópicos y México posee una gran cantidad de ecosistemas tropicales desde las dunas costeras hasta los bosques de niebla, en donde las especies CAM se encuentran en hábitats contrastantes.

La respuesta fisiológica de plantas CAM al ambiente ha sido el tema principal de trabajo fisio-ecológico; sin embargo, existen pocos estudios en especies CAM tropicales creciendo en ambientes contrastantes a lo largo del año y bajo condiciones naturales (Cervantes *et al*, 2005, Cervera *et al* 2006). Asimismo, no se conocen las implicaciones ecológicas de los patrones de respuestas de plantas CAM a través de un rango de hábitat y microambientes. El conocer las diferencias entre especies CAM en la habilidad y plasticidad para adquirir agua, conservarla y resistir a la desecación, interceptar el flujo de fotones para fotosíntesis, así como para asimilar carbono nos ayudarán a determinar porqué ciertas especies CAM tienen una distribución amplia y otras una más limitada, así como determinar los requerimientos microambientales para cada especie y de esta manera poder elaborar planes de manejo más efectivos y con un mayor sustento teórico.

En base a lo anterior, en el presente trabajo los objetivos fueron:
1.3 OBJETIVO GENERAL

Caracterizar la actividad fotosintética y otros aspectos fisiológicos y ecológicos de algunas especies CAM en Yucatán y la variación fisio-ecológica en relación a los cambios ambientales de las diferentes estaciones del año. Así como caracterizar los requerimientos ambientales óptimos para el crecimiento y mayor adecuación de la especie CAM con mayor valor de importancia en las comunidades.

1.3.1 Objetivos particulares

- Estimar el valor de importancia de las especies CAM terrestres en tres comunidades en un gradiente de precipitación.
- Evaluar las fluctuaciones estacionales de la actividad fotosintética de las especies CAM a lo largo del gradiente de precipitación y en diferentes microambientes de luz a lo largo de un año.
- Evaluar la extensión y el grado de la actividad CAM mediante el uso del isótopo ¹³C a lo largo del gradiente de precipitación.
- Determinar el crecimiento anual de individuos adultos de Agave angustifolia de diferente tamaño, en diferentes microambientes de luz.
- Analizar los patrones estacionales en la asimilación de CO₂ en individuos adultos de Agave angustifolia de diferente tamaño.
- Evaluar el efecto de la sequía sobre el potencial hídrico, en el potencial osmótico y en la concentración de ácidos orgánicos a lo largo de la hoja (base, centro y ápice) en individuos adultos de Agave angustifolia en condiciones semicontroladas.

1.4 REFERENCIAS

- Acevedo E., I. Badilla., P.S. Nobel (1983). Water relations, diurnal acidity changes, and productivity of a cultivated cactus, Opuntia ficusindica. Plant Physiology, 72, 775-780.
- Andrade J.L., E. De la Barrera, C. Reyes-García, M.F. Ricalde, G. Vargas-Soto y J.C. Cervera (2007). El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad, fisiología ambiental y productividad. Boletín de la Sociedad .Botánica de México, 81, 37-50.
- Borland, A.M., H. Griffiths., C. Maxwell., M.S.J. Broadmeadow.,MN. Griffiths y JD. Barnes (1992). On the ecophysiology of the Clusiaceae in Trinidad: expression of CAM in Clusia minor L. during the transition from wet to dry season and characterization of three endemic species. New Phytology, 122, 349-357.
- Borland, A.M., H. Griffiths, S. Mark, J. Briadmeadow, ;.C. Fordham y C. Maxwell (1994). Carbon-Isotope composition of biochemical fractions ans regulation of carbon blance in leaves of the C3crassulacean acid metabolism intermediate Clusia minor L. Growwing in Trinidad. Plant Physiology, 106, 493-501.
- Borland A.M. y H. Griffiths (1997). A comparative study on the regulation of C_3 and C_4 carboxylation processes in the constitutive crassulacean acid metabolism (CAM) plant Kalanchoë daigremontiana and C_3 -CAM intermediate Clusia minor. Planta, 201,368-378.
- Cervantes S.E, E.A. Graham y J.L. Andrade (2005). *Light microhabitats, growth and photosynthesis of an epiphytic bromeliad in a tropical dry forest.* Plant Ecology, 179:107-118.
- Cervera J.C., J.L. Andrade., EA. Graham., R Durán., P.C. Jackson. y J.L. Simá (2007). *Photosynthesis and optimal light microhabitats for rare cactus, Mammillaria gaumeri, in two tropical ecosystems.* Biotropica, 39: 620-627
- Cushman, J.C. (2001). Crassulacean Acid Metabolism. A plastic photosynthetic adaptation to arid environments. Plant Physiology, 217: 1439-1448.
- Cushman, J.C. (2001). Crassulacean acid metabolism. A plastic photosynthetic adaptation to arid environments. Plant Physiology, 127:1439-1448
- Cushman J.B., AM. Borland (2002). Induction of Crassulacean acid metabolism by water limitation. Plant Cell Environment, 25: 295-310
- Dodd, A.N.,A.M. Borland, R.P. Haslam, H. Griffiths, K. Maxwell (2002). *Crassulacean acid metabolism: Platic, fantastic.* Journal Experimental Botany, 53: 569-580
- Dudley, S.A. (1996). Differing selection on plant physiological traints in response to environmental water availability: A test of adaptative hypotheses. Evolution 50:92-102.

- Earnshaw, M.J., A.K. Carver y J.A. Lee (1985). Changes in leaf water otential and CAM in Sempervivum montanum ans Sedum album in response to water availability in the field. Oecologia, 67: 486-492.
- Griffiths, H. (1989) Carbon dioxide concentrating mechanism and the evolution of CAM in vascular epiphytes. In *Vascular plants as epiphytes*, Luttge, U (ed).
- Goldstein, G. y P.S. Nobel (1991). Changes in osmotic pressure and mucilage during low temperature acclimation of Opuntia ficusindica. Plant Physiology, 97, 954-961.
- Haag-Kerwer A., A.C. Franco y U. Luttge (1992). The effect of the temperature and light on gas exchange and acid accumulation in the C3-CAM plant Clusia minor L. Journal Experimental Botany, 43, 345-352.
- Harris, F.S. and C.F. Marin (1991) *Correlation between CAM-cycling and* photosynthetic gas exchange in five species of (Talinum) (*Portulacaceae*). Plant Physiology, 96, 1118-1124.
- Hernández-González O. y O. Briones-Villarreal (2007). Crassulacean acid metabolism photosynthesis in columnar cactus seedlings during ontogeny: the effect of light on nocturnal acidity accumulation and chlorophyll fluorescence. American Journal of Botany, 94, 1344-1351
- Herppich, W.B., M. Herppich and D.J. Von Willert (1998). Ecophysiological investigations on plants of the genus Plectranthus (Lamiaceae). Influence of environment and leaf age on CAM, gas exchange and leaf water relation in Plectranthus marrubioides Benth. Flora, 193, 00-109.
- Holtum, J.A.M. (2002). Crassulacean acid metabolism: plasticity in expression, complexity of control. Funcionalt Plant Biology, 29:657-661.
- Lambers, H., F.S. Chapin III y T.L. Pons (1998). *Plant physiology* ecology. Springer.
- Lu Q, N. Qui., Q. Lu., B. Wang. y T. Kuang (2003). *PSII photochemistry, thermal energy dissipation, and the xanthophyll cycle in Kalanchoe daigremontiana exposed to a combination of water stress and high light.* Physiology Plant., 118, 173-182
- Luttge, U. (1983) The role of crassulacean acid metabolism (CAM) in adaptation of plant to salinity. New Phytology., 125, 59-71.
- Luttge, U. (2004). *Ecophysilogy of crassulacean acid metabolism (CAM)*. Annual of Botany, 93, 629-652.
- Luttge, U., E. Medina., W.J. Cram., H.S.J. Lee., M. Popp y J.A.C. Smith (1989). Ecophysiology os xerophytic and halophytic vegetation of coastal alluvial plain in northern Venezuela. II. Cactacea. New Phytology., 111, 245-251.
- Manzen, A.M.A (1996). Change en levels of phosphoenolpyruvate carboxylase with induction of Crassulacean acid metabolism (CAM)-like behavior in the C₄ plant Portulaca oleracea. Physiology Plant, 98, 111-116

- Maxwell K. (2002). Resistance is useful: diurnal patterns of photosynthesis in C3 and crassulacean acid metabolism epiphytic bromeliads. Functional Plant Biology., 29, 679-687.
- Medina E., W.J. Cram., H.S.J. Lee., U. Luttge., M. Popp., J.A.C. Smith y M. Diaz (1989). Ecophysiology of xerophytic and halophytic vegetation of coastal alluvial plain in northern of Venezuela. I. Sie description and plant community. New Phytology., 111, 233-243.
- Nobel P.S. (1983) Nutrient level in Cacti-Relation to nocturnal acid accumulation and growth. American Journal of Botany, 70, 1244-1253.
- Nobel, P.S (1985a). *PAR, water, and temperature limitations on the productivity of cultivated Agave fourcroydes (Henequen).* Journal of Applied Ecology, 22, 157-173.
- Nobel, P.S. (1985b). Water relations and carbon dioxide uptake of Agave deserti special adaptation to desert climates. Desert Plant, 7, 51-56
- Nobel, P.S. (1988). Environmental Biology of Agaves and Cacti. Cambridge University Press, Cambridge
- Nobel, P.S. (1991). Achievable productivities for certain CAM plants: basis fot high values compared with C_3 and C_4 . New Phytology., 119, 183-205.
- Nobel, P.S. (1996). "High productivity of certain agronomic CAM species", In *Crassulacean acid metabolism, biochemistry, ecophysiology and evolution*, Winter K., JAC Smith (eds). Belin, Heidelberg, New York. Springer-Verlag. pp. 255-265.
- Nobel P.S., U. Luttge., S. Heuer. y E. Ball (1984). *Influence of applied NaCL on Crassulacean acid metabolism and ionic levels in a cactus, Cereus validus.* Plant Physiology, 75, 799-803.
- Nobel, P.S. y T.L. Hartsock (1984). *Physiological response of Opuntia ficus-indica* to growth temperature. Physiology Plant., 60, 98-105.
- Nobel, P.S. y E.G. Bobich. 2002. "Environmental Biology". In: *Cacti. Biology and Uses*, Nobel, P.S. (ed) University of California Press. Los Angeles, California. pp. 57-74.
- Nobel, P.S. y T.L. Hartsock (1983). Relationship between photosynthetically active radiation, nocturnal acid accumulation, and CO2 uptake for a crassulacean acid metabolism plant Opuntia ficus-indica. Plant Physiology., 71: 71-75
- Osmond, C.B. (1978). Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. Ann Rev of Plant Physiology., 29, 547-557
- Ota, K., T. Tezuka. y Y. Yamamoto (1988). Changes in crassulacean acid metabolism of Kalanchoe blossfeldianan by different nitrogen sourse. Plant Cell Physiology., 29, 533-537.
- Paul MJ. y W. Cockburn (1990). The stimulation of CAM activity in Mesembryanthemum crystallinum in nitrate-and phosphate-deficit conitions. New Phytology., 114, 391-398.
- Ravetta, D.A. y S.P. McLaughlin (1996). Ecophysiological studies in Hesperaloe funifera (Agavaceae): a potential new CAM crop. Seasonal patterns of photosynthesis. Journal Arid Environments, 33, 211-223.

- Raveh, E, A. Nerd, y Y. Mizrahi (1998). Response of two hemiepiphytic fruti crop cacti to different degrees of shade. Scientia Horticulturae 73, 151-164.
- Smith J.A.C., P.J. Schlte y P.S. Nobel (1987). Water flow and water storage in Agave deserti: osmotic implication of crassulacean acid metabolism. Plant Cell Environment, 10, 639-648.
- Szarek S.R., P.A. Holthe.y I.P. Ting (1987) Minor physiological response to elevated CO2 by the CAM plant Agave vilmoriniana. Plant Physiology., 83, 938-940.
- Taybi T., J.C. Cushman., A.M. Borland (2002). *Environmental hormonal* and cicadian regulation of crassulacean acid metabolism expression. Functional Plant Biology, 20, 669-678.
- Winter, K., J.A.C. Smith (1996). "Crassulacean acid metabolism. Current status and perspectives", In: Crassulacean acid metabolism. Biochemestry, ecophysiology and evolution. Ecological studies, Winter, K., J.A.C. Smith (eds). Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag. pp. 389-426.
- Winter, K., G., Zotz., B. bar y K.-J. Dietz (1992) Light and dark CO2 fixation in Clusia uvitana and the effects of plant water status and CO2 availability. Oecologia, 91, 57-51.
- Winter, K., H. Ziegler (1992). Induction of crassulacean acid metabolism in Mesembryanthemum crystallinum increases reproductive success under conditions f drought and salinity stress. Oecologia, 92, 475-479.
- Winter, K., J.A.C. Smith (1996). Crassulacean Acid Metabolism. Biochemestry, Ecophysiology and Evolution. Srpinger-Verlarg, Berlin.
- Winter, K., M. Garcia y J.A.M. Holtum (2008). On the nature of facultative and constitutive CAM: environmental and developmental control of CAM expression during early growth of Clusia, Kalanchoe, and Opuntia. Journal Experimental Botany, 1-12.
- Zotz, G (2000). Size-related intraspecific variability in physiological traits of vascular epiphytes and its importance for plant physiological ecology. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, 3(1), 19-28
- Zotz, G and P. Hietz (2001). The physiological and ecology of vascular ephiphytes: current knowledge, open questions. Journal Experimental Botany, 52, 2067-2078.

Capítulo II

Environmental regulation of carbon isotope composition and crassulacean acid metabolism in three plant communities along a water availability gradient

2.1 INTRODUCTION

Crassulacean acid metabolism (CAM) is characterized by a nocturnal CO_2 uptake by the enzyme phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPc), which represents phase I within the four phases of CAM as defined by Osmond (1978). This nocturnal uptake of CO_2 via PEPc forms C_4 acids, which are decarboxylated during the daytime and generate an elevated intercellular CO_2 concentration when stomata are closed (phase III). Between these two phases, there are transitional periods of net CO_2 uptake at the beginning (phase II) and at end (phase IV) of the day, when both PEPc and RUBISCO can contribute to CO_2 assimilation (Lüttge 1987; Cushman 2001; Dodd et al. 2002). Environmental factors such as light intensity, relative humidity, nocturnal temperature, and water availability affect the proportion of CO_2 uptake at night via PEPc or directly during the day via RUBISCO (Griffiths 1992; Cushman and Borland 2002; Taybi et al. 2002; Jian-Ying et al. 2005).

The nocturnal CO₂ uptake mechanism found among CAM species water-use generally improves efficiency because of reduced transpiration rate during the night (Cushman and Borland 2002). One hallmark of CAM plants is the remarkable flexibility of the basic metabolic framework described above, which varies in terms of the proportion of CO₂ assimilated through the CAM and C₃ pathways, among taxa, and in response to environmental conditions (Holtum and Winter 1999; Holtum 2002; Taybi et al. 2002; Cushman and Borland 2002; Dodd et al. 2002; Winter and Holtum 2007; Winter et al. 2008), and may confer an ecological advantage for surviving in habitats with seasonal variation in resource availability (Griffiths 1992; Cushman and Borland 2002; Lüttge 2004). Therefore, CAM plants are likely to vary in the balance of CO₂ assimilation by RUBISCO versus PEPc along environmental gradients. and such variation may provide some advantage over other species within the community.

Investigations of carbon isotopic composition (δ^{13} C) can yield information regarding long-term and daily changes in the proportion of CO₂ fixed during the night or day (Griffiths 1992). The ¹³C/¹²C ratio is an indicator of these changes in the assimilation of CO₂ because the

Ricalde, M.F, J.L. Andrade; R. Duran; J.M. Dupy; J.L. Simá; R. Us-Santamaria; L.S. Santiago. Environmental regulation of carbon isotope composition and crassulacean acid metabolism in three plant communities along water available gradient. Aceptado en Oecologia 20 de Junio del 2010 21

enzyme responsible for net CO₂ uptake in the dark, PEPc, discriminates less against ¹³C than RUBISCO, the enzyme responsible for most net CO_2 uptake during the day. The changes in $\delta^{13}C$ in CAM plants thus depend on: (1) the contribution of CO₂ fixed directly by RUBISCO in the light (Phase II and IV); (2) the proportion of respiratory CO₂ fixed during phase I in the dark by PEPc; and, (3) the extent of leakage during the decarboxylation (phase III), allowing RUBISCO discrimination to be expressed (Griffiths et al. 1990; Griffiths 1992; Griffiths et al. 2007). CAM plants with CO₂ uptake almost exclusively at night would, thus, be expected to show δ^{13} C values around -11‰, whereas if all the CO₂ is fixed directly by RUBISCO the values of δ^{13} C would be approximately -27‰ (O'Leary 1988). A shortcoming of using whole-tissue carbon isotope surveys to obtain an integrated value of the contribution of dark and light CO₂ fixation to the total carbon gain is that, in the absence of measurements of acidity or CO₂ exchange, it is unclear where C₃ ends and CAM begins. Species with values of δ^{13} C characteristic of C₃ plants have been reported to obtain up to one-third of their carbon through CAM activity (Winter and Holtum 2002; Silvera et al. 2005; Griffiths et al. 2007).

Many studies document a wide range in the magnitude of CAM expression that can be induced by water limitation, high temperatures, and high light availability in different species (Kluge et al. 2001; Winter and Holtum 2002: Pierce et al. 2002: Holtum et al. 2004: Winter et al. 2005; Winter and Holtum 2005; Griffiths et al. 2007; Herrera 2009; Silvera et al. 2009; Vargas-Soto et al. 2009). Moreover, ecophysiological surveys are a powerful tool to obtain insights leading to a better understanding of the adaptive significance of CAM (Kluge et al. 1997; Kluge et al. 2001). In this paper, we present a comparative survey of CAM activity in three plant communities of the Yucatan Peninsula along a gradient of water availability. This is to our knowledge one of the few comparative ecophysiological investigations of CAM activity of different species in different ecosystems. The aims of the present study were: (1) to determine the relative ecological importance of CAM species as a function of precipitation; (2) to determine seasonal fluctuations in CAM photosynthetic activity through nocturnal acid accumulation in plants arowing precipitation gradient and in different on а light microenvironments; (3) to evaluate the extension and degree of CAM activity through isotopic variation in δ^{13} C of bulk photosynthetic tissue and sugars along a precipitation gradient.

2.2 Materials and methods

2.2.1 Study site and species

The Yucatan Peninsula experiences a seasonally-dry tropical climate and contains a north-south precipitation gradient of 500 to 2000 mm. A marked dry season from March to May, when most of the trees are leafless, is separated from the rainy season between June and

October, and an early dry season from November to February, which is often characterized by up to 3-d events of strong winds (>80 Km h^{-1}), little rainfall (20 to 60 mm) and low temperatures (<20 °C, Orellana 1999).

This study was conducted in three sites: (1) the coastal dune scrubland of San Benito (21°19'10"N, 89°30'40"W), which receives approximately 500 mm of annual rainfall, and has a mean annual temperature of 26 °C (Orellana 1999); (2) Dzibilchaltún, National Park (21°05'N, 89°35'W), a tropical dry deciduous forest with a mean annual rainfall of 700 mm and temperature of 25.8 °C (Thien et al. 1982); and (3) Cuxtal Ecological Reserve (20°47'N, 89°49'W), a tropical dry deciduous forest, with a mean annual rainfall of approximately 1000 mm, and a mean annual temperature of 25.5 °C (Chnaid 1998). The sites were selected because of high CAM species diversity and relatively little disturbance compared to ecosystems of the northern Yucatan (Espejel 1987; Rico-Gray et al. 1988; Ceccon et al. 2002; White and Hood, 2004).

At each site, species in families with previous reports of CAM (Winter and Smith 1996), such as Agavaceae, Bromeliaceae, Cactaceae and Orchidaceae, were selected for investigation. Only one epiphyte species was selected, *Myrmecophila christinae*, and all other species were terrestrial (Table 1).

2.2.2 Community structure and relative importance value of CAM species

The point-centered quarter method was used to determine community structure and captures the most abundant species in a rapid and reliable way (Mueller-Dombois and Ellenberg 1974). We used two 100-m long transects and selected 20 sampling points at random in each transect. At each sampling point, four quarters were established through a cross formed by two lines. The distance to the midpoint of the nearest individual from the sampling point was measured in each quarter. For each sampling point, the species identity and the cover or dominance of the individual were recorded. The individuals considered were those that had a minimum height of 10 cm; Poaceae and annual species were not considered. The relative importance value (RIV) was used to estimate the relative importance of plant species in the three communities defined as: RIV = Relative density + Relative coverage + Relative frequency (Skeen 1972, Mueller-Dombois and Ellenberg 1974).

2.2.3 Nocturnal tissue acidification

At each study site ten individuals of each species were randomly selected, 5 growing at ca 80% of total daily photon flux density (PFD) and 5 growing at ca 30% of total daily PFD, which was measured with gallium arsenide phosphide photodiodes (Hamamatsu Corporation, Bridgewater, New Jersey, USA), previously calibrated against a quantum

sensor (LI190S, LI-COR, Lincoln, Nebraska, USA) connected to a datalogger (CR21X, Campbell Scientific Inc., Logan, Utah, USA) and placed 5 m above the ground in a non-shaded location. The minimal distance among individuals was 5 m.

Two samples of one leaf or stem were taken with a cork borer (1.5 cm diameter) at dusk, and before dawn the following day during the rainy (15-18, October 2005), early dry (7-10, February 2006) and dry (25-28, May 2006) seasons. Environmental conditions at the time of sampling were: during the rainy season a daily average precipitation of 27.4 mm in the three sites (October 15), minimum temperature 20°C (San Benito), maximum temperature 34°C (Dzibilchaltún and Cuxtal); during the early dry season no rainfall during the sampling period and previous week, minimum temperature 10°C (San Benito), maximum temperature 32°C (Cuxtal); during the dry season little rainfall at Cuxtal (3.5 mm) during the sampling period; minimum temperature 22°C (San Benito); maximum temperature 35°C (Cuxtal). Samples were frozen until transported to the laboratory, then boiled in 10 ml of distilled water for 10 minutes, and after adding 50 ml of distilled water, ground with a mortar and pestle, and titrated with 0.01 N NaOH to pH 7 (Osmond et al. 1994) measured with an electronic pH meter (Model 744, Metrohm Ltd., Herisau, Switzerland). Nocturnal tissue acidification (ΔH^+) was estimated from the hydrogen ion concentration (H^{+}) at dawn minus H^{+} at dusk.

2.2.4 Carbon isotopic composition

During the rainy season (October 18, 2005), five samples of leaf or stem were taken from the same individuals at the time when the predawn samples for tissue acidity were taken. The samples were dried in an oven at 80°C for 48 h and homogenized to a fine powder using a mortar and pestle. Samples for carbon isotopic composition of bulk tissue were prepared as 3-mg samples rolled in tin capsules (Crayn et al. 2001; Pierce et al. 2002; Winter and Holtum 2002).

Whereas carbon isotopic composition (δ^{13} C) of bulk tissue represents the time-integrated proportion of CO₂ assimilated through the CAM versus C₃ pathway in CAM plants, we also measured the extractable sugar fraction, which more closely reflects the photosynthetic discrimination against ¹³CO₂ over the previous 1-2 days allowing an indication of how plants are responding to environmental conditions over a shorter period (Ehleringer et al. 2004; Hu et al. 2010). The sugar extraction and purification was performed according to Brugnoli et al. (1998) and modified as follows: approximately 50 mg of oven-dried leaf material was mixed with 5 cm³ of distilled de-ionized water (vortex for few seconds), and centrifuged for 20 minutes at 12,000 rpm. The supernatant was then decanted through ion-exchange resins (Dowex 50WX8-100, 1X2, CI-form, Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, USA) to isolate the neutral fraction (mostly sugars). After freeze-drying the samples, 0.8-2.0 mg of dried sugars were prepared in sample tins for isotopic analysis. δ^{13} C was determined on an elemental analyzer (ANCA-SL; PDZ Europa Ltd, Crewe, UK) interfaced with a continuous flow isotope ratio mass spectrometer (model 20/20, PDZ Europa Ltd) at the University of California, Berkeley, Center for Stable Isotope Biogeochemistry (CSIB). Long-term external precision for these analyses are ± 0.22% for δ^{13} C. The abundance of ¹³C in each sample was calculated relative to the abundance of ¹³C in internal standards that had been calibrated against Pee Dee belemnite. Relative abundance was determined using the relationship (Ehleringer et al. 2004): δ^{13} C (‰) = [(¹³C/¹²C of sample)/(¹³C/¹²C of standard)-1] X 1000.

2.2.5 Statistical analysis

A three-way analysis of variance (ANOVA) with 'repeated measures' (ANOVAR; Potvin et al. 1990; Valdez-Hernández et al. 2010) was used to compare the tissue acidity among light levels, seasons and species within each site. Differences in carbon isotopic composition among sites and between light levels were tested using a nested ANOVA, where the different light levels were nested within each site, and using mean species values for bulk tissue and sugar \Box^{13} C. Means were compared with a Tukey test and all analyses were performed using Statistica v. 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, U.S.A). Linear regression was utilized to describe the relationship of both bulk tissue and extracted sugar \Box^{13} C values for *Acanthocereus tetragonus* as a function of annual rainfall.

2.3 RESULTS

2.3 1 Relative importance of CAM species

In the 500 mm site (coastal dune scrubland, San Benito), 10% of species had CAM, which represented 19% of the relative importance value (RIV) in the plant community. In this site, one CAM species (Agave angustifolia) was one of the fifteen species with the highest RIV (16% RIV; Fig. 2.1A), while Acanthocereus tetragonus and Opuntia dillenii contributed only to 3% of the RIV in the community. In both tropical dry deciduous forest communities, 15% of species were CAM and represented 35% and 20% of the RIV for the 700 mm site (Dzibilchaltún) and the 1000 mm site (Cuxtal), respectively. Four CAM species were among the sixteen species with the highest importance value in these two communities: in the 700 mm site, these were Agave angustifolia, Nopalea inaperta, Bromelia karatas and Stenocereus eichlamii; whereas in the 1000 mm site, these were S. eichlamii, N. inaperta, B. karatas, and Pereskiopsis scandens. Acanthocereus tetragonus was not within the fifteen species with the highest RIV, but it was always among the 24 species of most importance in both forest communities (Fig. 2.1).

2.3.2 Nocturnal tissue acidification

Tissue acidification was significantly different among seasons in the three sites, with the greatest values during the rainy season (P < 0.0001 for the three sites, Table 2.1). In the 500 mm site, the lowest tissue acidification values were during the dry season, and in both wetter sites, the lowest values were during the early dry season. During the rainy season, tissue acidification was significantly different for plants growing in the two light microclimates in the three communities (P < 0.0001 for the 500 mm site, and P < 0.05 for the 700 mm and the 1000 mm sites, respectively; Table 2.1). At the 500 mm site, plants growing at 30% of total daily ambient PFD showed higher acidity values than those growing at 80% of total PFD (P < 0.0001; Table 2.1). In both forest communities tissue acidification during the rainy season was greater for plants growing at 80% PFD than plants growing at 30% PFD (P = 0.020and P = 0.047, for the 700 mm and 1000 mm sites, respectively).



Figure. 2.1 Relative ecological importance of CAM species in the coastal dune of San Benito (A) and the tropical dry deciduous forests of Dzibilchaltún (B) and Cuxtal (C). Each symbol corresponds to a different species in the communities.

Table 2.1 Seasonal tissue acidity (ΔH^+ ; mmol $H^+ m^{-2}$) of CAM species growing at 80% and 30% of total daily photon flux density (PFD) in a coastal dune and in two tropical dry deciduous forests. Data are means \pm SE (n =10) Different letters denote significant differences among seasons and between PFD levels at P<0.05 as determined by s Tukey's test. NS, not significa

Coastal dune (San Benito; 500 mm)						
Species	Rainy		Early dry		Dry	
	80% PFD	30% PFD	80% PFD	30% PFD	80% PFD	30% PFD
Acanthocereus tetragonus (L.) Hummelinck (Cactaceae)	29.4±47.0 ^a	463.2±55.2 ^b	54.8±47.0	95.6±54.2	69.6±42.0	88.1±47.0
Agave angustifolia Haw. (Agavaceae)	241.3 ± 47.0ª	536.4±47.0 ^b	249.4±42.0	132.3±54.2	35.5±48.0	38.8±48.0
Myrmecophila christinae Carnevali & Gómez-Juárez (Orchidaceae)	149.6±47.0	197.1±47.0 NS	65.2±42.0	111.1±54.2	29.7±42.0	24.6±42.0
Opuntia dillenii (Ker Gawl.) Haw. (Cactaceae)	333.0±54.2ª	512.6±47.0 ^b	239.7±47.0	92.5±47.0	142.0±42.0	183.8±42.0
Selenicereus donkelaarii (Salm-Dyck) Britton & Rose (Cactaceae)	67.6±54.2	147.9±47.0 NS	42.2±47.0	81.6±54.2	21.8±42.0	24.0±42.0
Tillandsia dasyliriifolia Baker (Bromeliaceae)	27.0±54.2	59.4±42.0 NS	8.2±54.2	22.0±54.2	19.0±42.0	33.0±43.0
Mean (PFD)	164.1 ^ª	319.5 ^b	109.2	94.0 NS	54.6	65.7 NS
Mean (season)	242.	0±1.0 ^ª	97.0:	±6.2 ^b	60.	2±8.2°
Tropical dry forest (Dzibilchaltún; 700 mm)						
	Rainy		Early dry		Dry	
	80% PFD	30% PFD	80% PFD	30% PFD	80% PFD	30% PFD
A. tetragonus	400.0±50.1	354.4±24.0 NS	55.2±24.0	174.6±23.9	157.2±50.1	177.2±23.9 NS
Aechmea bracteata (Sw.) Griseb. (Bromeliaceae)	90.9±6.1	86.1±16.5 NS	22.3±8.8	32.8±16.5	45.4±6.1	43.0±16.5 NS
A. angustifolia	484.3±46.9ª	313.3±14.8 b	151.5±59.2	138.6±14.8	242.2±46.9ª	156.7±14.8 b
Bromelia karatas L. (Bromeliaceae)	80.4±5.2ª	46.7±8.6 b	20.8±5.9	19.7±8.6	40.2±5.2	23.3±8.6 NS
Nopalea inaperta Schott ex Griffiths (Cactaceae)	459.0±15.7ª	387.2±15.6 b	120.5±42.4	189.5±56.6	179.7±15.7	193.6±56.6 NS
Pilosocereus gaumeri (Britton & Rose) Backeb. (Cactaceae)	602.5±26.3ª	167.0±26.1 b	131.3±40.0	63.8±26.1	301.2±26.3ª	83.5±26.1 b
Stenocereus eichlamii (Britton & Rose) Buxb (Cactaceae)	105.3±33.4	77.0±16.4 NS	114.2±58.2	49.0±16.4	52.6±33.4	38.5±16.4 NS
Mean (PFD)	292.0 ^a	200.0 ^b	88.0	86.1 NS	145.5	103.5 NS
Mean (season)	247.0±15 ^a		86.2±8 ^b		123.4±8°	
Tropical dry forest (Cuxtal; 1000 mm)						
	Rainy		Early dry		Dry	
	80% PFD	30% PFD	80% PFD	30% PFD	80% PFD	30% PFD
A. tetragonus	338.4±34.7	347.2±25.6 NS	183.8±34.7	178.5±25.6	169.2±45.6	173.6±25.6
B. karatas	220.2±3.3ª	108.2±15.8 ^b	45.1±35.7	43.8±35.7	110.1±21.2	54.1±35.8
N. inaperta	388.4±58.8ª	275.0±22.1 ^b	135.0±58.8	132.6±22.1	194.2±23.4	137.5±32.1
Pereskiopsis scandens Britton & Rose (Cactaceae)	468.7±31.5 ^a	131.7±9.7 b	11.9±31.5	60.7±9.7	273.4±15.4	221.5±9.7
P. gaumeri	484.6±18.7	401.7±26.0NS	244.3±50.2	165.9±9.7	196.0±67.5	65.8±35.3
S. eichlamii	392.2±50.2ª	131.7±9.7 b	106.2±18.7	103.9±66.0	242.8±31.5	200.8±66.0
Mean (PFD)	382.9ª	301.2 ^b	120.9	120.9 NS	189.0	150.8 NS
Mean (season)	342.0±20.3ª		121.0±10.3 ^b		170.0±10.2 ^c	

2.3.3 Carbon isotopic composition of bulk tissue fractions

All plants in all sites showed bulk tissue leaf δ^{13} C values typical of strong CAM, less negative than -20‰ (Fig.2.2), with the least negative bulk tissue δ^{13} C values (-11‰ to -15‰) in the 500 mm site (Fig. 2.2A) and the most negative values (-12‰ to -19‰) in the 1000 mm site (Fig. 2.2C). Plants growing in the 500 mm site were more enriched in ¹³C (*P* < 0.05), with mean δ^{13} C of bulk tissue approximately 2‰ less negative than plants growing in the forest communities. There was a significant negative relationship between annual rainfall and leaf δ^{13} C values for *Acanthocereus tetragonus*, the only species found in all three sites (Fig. 2.3A). No differences in bulk tissue δ^{13} C values were found between plants growing at 30% and 80% total daily ambient PFD in any of the three sites (*P* > 0.05).



Figure. 2.2 Frequency of bulk tissue (A-C) and sugar (D-F) δ^{13} C values for individuals of 12 CAM species in the coastal dune of San Benito (A, D) and the tropical dry deciduous forests of Dzibilchaltún (B, E) and Cuxtal (C, F). Each bar represents a 2‰ range of δ^{13} C.



Figure. 2.3 Relationship between bulk tissue (A) and sugar (B) δ^{43} C values for Acanthocereus tetragonus and mean annual rainfall in San Benito (500 mm rainfall), Dzibilchaltún (700 mm) and Cuxtal (1000 mm). Each point represents a sample for an individual during the rainy season (*n* = 9).

2.3.4 Carbon isotopic composition of the sugar fraction

Similar to bulk tissue δ^{13} C values, in the 500 mm site, plants had sugar δ^{13} C values 2‰ less negative than plants in the other two sites (*P*<0.05). The standard deviation from the mean of the δ^{13} C values of the sugar fraction in each species showed that *Acanthocereus tetragonus* had greater δ^{13} C variability than the rest of the species (Fig.2.4). Similar to bulk tissue, δ^{13} C values of the sugar fraction for *Acanthocereus tetragonus* showed decreasing enrichment of 13 C of sugar with increasing precipitation (Fig. 2.3B). Moreover, *A. tetragonus* was the only species that showed significant differences in the δ^{13} C values of sugar between the plants growing at 80% and 30% of total daily PFD in the coastal dune scrubland; plants that had the least negative values of δ^{13} C were those growing at 80% PFD in comparison with plants growing at 30% PFD (P < 0.0001; Fig. 2.5 A). In the other two communities this species did not show differences in δ^{13} C of sugar between light microenvironments (P > 0.05). Tissue acidification was significantly different between individuals of *A. tetragonus* growing at 80% and 30% of PFD in the coastal dune scrubland (Fig. 2.5 B); individuals with the lowest acidity values were those growing at 80% PFD (P < 0.0001). No differences in tissue acidity were found between the plants of this species growing in both light conditions in the other two communities (P > 0.05; Fig. 2.5B).



Species code

Figure. 2.4 Mean $\delta^{I3}C$ values (closed symbols) of sugar ± standard deviation and range (open symbols) of 10 CAM species. Key for the species code: Acanthocereus tetragonus (At), Agave angustifolia (Aa), Bromelia karatas (Bk), Nopalea inaperta (Ni), Stenocereus eichlamii (Se), Pilosocereus gaumeri (Pg), Pereskiopsis scandens (Ps), Opuntia dillenii (Od), Selenicereus donkelaarii (Sd), and Tillandsia dasyliriifolia (Td).



Figure. 2.5 Values of δ^{13} C of sugars (A) and tissue acidity (B) in three populations of Acanthocereus tetragonus in San Benito (circles), Dzibilchaltún (triangles) and Cuxtal (squares) growing at 80% of total daily photon flux density (PFD) (open symbols) or at 30% total PFD (closed symbols) during the rainy season.

2.4 DISCUSSION

Our data demonstrate that carbon gain by CAM plants along this precipitation gradient was greatest in the wet season, indicating that seasonal water limitation has the potential to reduce carbon gain by approximately 75% at the relatively dry coastal dune site and by 50% in the wetter forest sites, when comparing tissue acidification in the dry season versus wet season. In addition, at the driest site, plants growing at lower light had greater rates of carbon gain, whereas in the two wetter sites, plants growing in the higher light microhabitat had greater rates of carbon gain. These results highlight a shift in the interaction between light and water availability along this gradient, in which we observed that when water availability increases, plants were able to increase their tissue acidification at higher PFD. In addition, our $\delta^{13}C$ data showed

greater proportional use of the nocturnal CO_2 uptake of the CAM species at the driest site (Figure 2). Moreover, species importance values and the proportion of CAM species in the communities increased from the coastal dune to the tropical dry forests, suggesting a more favorable balance of light and water availability for CAM performance in the wetter, forested communities.

Tissue acidity is an indirect way to measure nocturnal CO₂ uptake, including direct CO₂ uptake and CO₂ produced during respiration and re-assimilation. Therefore, an increase in tissue acidity would indicate an increase in the CO₂ uptake (Nobel 1988, 1991: Osmond et al. 1994). Other CAM species also show an enhancement in their net CO₂ uptake and increase tissue acidity when well-watered and a reduction of these two processes when droughted (Andrade et al. 2007. 2009). The reduction of tissue acidity during the dry season can be caused by higher nocturnal temperatures and greater water deficits together with higher PFD levels than during the rainy season (Cervera et al, 2007; Andrade et al. 2009). To avoid excess transpiration during the dry season. CAM species tend to show maximal stomatal opening later in the night reducing the amount of nocturnal increase of tissue acidity (Nobel 1985a, b; Nobel 1988; Nobel et al. 1991; Andrade and Nobel, 1997; Lu et al. 2003; Cervantes et al. 2005; Cervera et al. 2007). Conversely, the reduction of tissue acidity during the early dry season could be caused by the reduction in the PFD (30 mol m^2 d⁻¹) in comparison with that of the rainy and dry seasons (35 mol m⁻² d⁻¹ and 40 mol m⁻² d⁻¹, respectively). Although, it has been reported that, for several desert CAM species, nocturnal acid accumulation increases up to a total daily PFD of about 30 mol m⁻² d⁻¹ and any reduction in PFD reduces net CO₂ uptake (Nobel 1988), lower water vapor pressure deficits in our study sites than in the desert could increase that PFD limit, allowing the plants to use more light without losing more water.

In the 500 mm site, plants growing at 30% of the total daily ambient PFD had greater tissue acidification than plants growing at 80% ambient PFD (Table 1). Nevertheless, in both forest communities, the greatest increase in tissue acidity was for plants growing at 80% PFD. These differences among plants of the three sites are likely due to differences in soil water potentials and water vapor pressure deficits. For example, after 30 days of drought during the dry season, soil water potential 15 cm below the surface was -22.4 ± 2.3 MPa for a coastal dune scrubland and -19.8 ± 1.6 MPa for a tropical dry deciduous forest (Cervera et al. 2007). In addition, in some CAM species, under lightsaturating conditions, an increase in the photosynthetic capacity as a response to growth in high light without a proportional increase in the malate supply would predispose some plants to photoinhibition, causing drought stress to increase the negative effects of the high radiation (Skillman and Winter 1997). In our study, during the dry season, most species of the coastal dune site showed the lowest tissue acidity values (Table 1, Fig. 5) and less negative δ^{13} C values than all other species for

the two communities, indicating stomatal closure during phases II and IV of the CAM cycle and no contribution of RUBISCO to CO₂ uptake.

CAM species that showed significant differences in the tissue acidity growing in the two light microenvironments also had the highest relative importance value in the three communities. One exception was Acanthocereus tetragonus (Fig. 2.1), which was the only species in the three communities with strong CAM photosynthesis and a high photosynthetic plasticity in the coastal dune. It has been proposed that, given the range in the magnitude of CAM expression that can be induced by water limitation in different species, the ecological significance of CAM induction would depend on its relative importance as a survival mechanism, rather that the direct contribution to growth and productivity of the species (Griffiths 1992; Cushman and Borland 2002; Lüttge 2004). Kluge et al. (2001) found that CAM species of Madagascar with the highest photosynthetic plasticity were the species most widely distributed across the island, and thus occupied a greater variety of environments, compared to CAM species with low photosynthetic plasticity, which occupied a more restricted set of environments.

CAM plants in the three communities showed bulk tissue $\Box^{13}C$ values typical of strong CAM (δ^{13} C values less negative than -20 ‰: Holtum el al. 2004: Silvera et al. 2005), but the δ^{13} C values in plants from the coastal dune scrubland were 2‰ less negative than those from plants of the forest communities (Fig. 2.2). The bulk tissue and sugar δ^{13} C values for Acanthocereus tetragonus, which occurred in the three sites, showed a significant negative relationship with rainfall (Fig. 2.3). These data suggest that plants at drier sites decreased transpiration and stomatal conductance relative to photosynthesis, which would lead to the measured increase in δ^{13} C values. Moreover, the duration of the phase II of CAM decreases under water stress (Griffiths 1992), which would also decrease the isotope discrimination, leading to less negative $\delta^{13}C$ values. Similar results have been found in terrestrial plants from desert and tropical dry forest, and for epiphytes in a tropical cloud forest and three different secondary tropical dry forests where the carbon isotope ratios also increased with decreasing water availability (Ehleringer and Cooper 1988: Moonev et al. 1989; Hietz et al., 1999; Goode et al. 2010).

It has been proposed that the flexibility of CAM provides an advantage for acquisition of ecological niches (Lüttge 2004; Herrera 2009). In the present study, although all the species investigated in the three communities showed δ^{13} C values typical of strong CAM, one species, *A. tetragonus*, which inhabited all three communities, showed the highest variability in δ^{13} C values (Fig. 2.4). Members of the family Cactaceae have been considered as constitutive or obligate CAM species even at their early stages (Hernández-González and Briones Villarreal 2007); although some studies suggest that the contribution of CAM to total carbon gain is small during the first developmental stages

(Nobel 1988; Winter el al. 2008). The high variability of the strong CAM species, *A. tetragonus*, suggests that some cacti are able to respond to changes in the environment and inhabit more environments than other cacti. More detailed field and laboratory studies on different life stages of these strong CAM plants would be required to fully understand their ecological role in these tropical plant communities.

- Andrade JL, Nobel PS (1997). Microhabitats and water relations of epiphytic cacti and ferns in a lowland neotropical forest. Biotropica, 29,261-270
- Andrade JL, De la Barrera E, Reyes-García C, Ricalde MF, Vargas-Soto G, Cervera JC (2007). El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad fisiología ambiental y productividad. Bol Soc Bot Mex., 81,37-50
- Andrade JL, Cervera JC, Graham EA (2009). "Microenvironments, water relations, and productivity of CAM plants", in *Perspectives in biophysical plant ecophysiology. A tribute to Park S. Nobel*, De la Barrera E and Smith WK (eds). Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico
- Brugnoli E, Hubick KT, von Caemmerer S, Wong SC, Farquhar GD (1998). Correlation between the carbon isotope discrimination in leaf starch and sugars of C₃ plants and the ratio of intercellular and atmospheric partial pressures of carbon dioxide. Plant Physiol., 88,1418-1424
- Ceccon E, Olmsted I, Vázquez-Yanes C, Campo J (2002). Vegetation and soil properties in two tropical dry forest of differing regeneration status in Yucatan. Agrociencia, 36:621-631
- Cervantes SE, Graham EA, Andrade JL (2005) Light microhabitats, growth and photosynthesis of an epiphytic bromeliad in a tropical dry forest. Plant Ecol., 179,107-118
- Cervera JC, Andrade JL, Graham EA, Durán R, Jackson PC, Simá JL (2007). *Photosynthesis and optimal light microhabitats for rare cactus, Mammillaria gaumeri, in two tropical ecosystems.* Biotropica, 39,620-627
- Chnaid GD (1998). Cavernas y Cenotes de la Reserva Ecológica de Cuxtal. Ayuntamiento de Mérida. Mexico
- Crayn DM, Smith JAC, Winter K (2001). Carbon-isotope ratios and photosynthetic pathways in the Rapataceae. Plant Biol, 3,569-575
- Cushman JB (2001) Crassulacean acid metabolism. A plastic photosynthetic adaptation to arid environments. Plant Physiol 127:1439-1448
- Cushman JB, Borland AM (2002). Induction of Crassulacean acid metabolism by water limitation. Plant Cell Environ., 25,295-310
- Dodd AN, Borland AM, Haslam RP, Griffiths H, Maxwell K (2002). Crassulacean acid metabolism: plastic, fantastic. J Exp Bot., 53,569-580
- Ehleringer JR, Cooper TA (1988). Correlations between carbon isotope ratio and microhabitat in desert plants. Oecologia, 76,562-566
- Ehleringer JR, Crayn DM, Lott M (2004). Stable isotope methods. Stable isotope ecology course. Stable isotope ratio facility for environmental research. University of Utah, Salt Lake City

- Espejel I (1987) A phytogeographical analysis of coastal vegetation in the Yucatan. J Biogeogr., 14,499-519
- Goode LK, Erhardt EB, Santiago LS, Allen MF (2010). $\delta^{43}C$ soluble sugars in Tillandsia epiphytes vary in response to shifts in habitat. Oecologia, in press
- Griffiths H (1992). Carbon isotope discrimination and the integration of carbon assimilation pathways in terrestrial CAM plants. Plant Cell Environ 15:1051-1062
- Griffiths H, Broadmeadow MSJ, Borland AM, Hetherington CS (1990). Short-term changes in carbon-isotope discrimination identify transitions between C3 and C4 carboxylation during crassulacean acid metabolism. Planta, 181,604-610
- Griffiths H, Cousin AB, Murray R, von Caemmerer S (2007). Discrimination in dark. Resolving the interplay between metabolic and physical constraints to phosphoenolpyruvate carboxylase activity during the crassulacean acid metabolism cycle. Plant Physiol.,143,1055-1067
- Hernández-González O, Briones-Villarreal O (2007). Crassulacean acid metabolism photosynthesis in columnar cactus seedlings during ontogeny: the effect of light on nocturnal acidity accumulation and chlorophyll fluorescence. Am J Bot., 94,1344-1351
- Herrera A (2009). Crassulacean acid metabolism and fitness under water deficit stress: if not for carbon gain, what is facultative CAM good for? Ann Bot., 103,645-653
- Hietz P, Wanek W, Popp M (1999). Stable isotopic composition of carbon and nitrogen and nitrogen content in vascular epiphytes along an altitudinal transect. Plant Cell Environ., 22,1435-1443
- Holtum JAM (2002). Crassulacean acid metabolism: plasticity in expression, complexity of control. Funct Plant Biol., 29,657-661
- Holtum JAM, Winter K (1999). Degrees of crassulacean acid metabolism in tropical epiphytic and lithophytic ferns. Plant Physiol 26:749-757
- Holtum JAM, Aranda J, Virgo A, Gehrig HH, Winter K (2004). δ¹³C values and crassulacean acid metabolism in Clusia species from Panama. Trees, 18,658-668
- Hu J, Moore DJP, Monson RK (2010). Weather and climate controls over the seasonal carbon isotope dynamics of sugars from subalpine forest trees. Plant Cell Environ 33:35-47
- Jian-Ying MA, Chen T, Qiang WY, Wang G (2005). Correlation between foliar stable carbon isotope composition and environmental factors in desert plant Reaumuria soongorica (Pall) Maxim. Act Bot Sin., 9,1065-1073

- Kluge M, Vinson B, Ziegler H (1997). Ecophysiological studies on orchids of Madagascar: incidence and plasticity of crassulacean acid metabolism in species of the Agraecum Bory. Plant Ecol., 135,43-57
- Kluge M, Razanoelisoa B, Brulfert J (2001). *Implications of genotypic diversity and phenotypic plasticity in the ecophysiological success of CAM plants, examined by studies on vegetation of Madagascar.* Plant Biol., 3,214-222
- Lu Q, Qui N, Lu Q, Wang B, Kuang.T (2003) *PSII photochemistry,* thermal energy dissipation, and the xanthophyll cycle in Kalanchoe daigremontiana exposed to a combination of water stress and high light. Physiol Plant., 118,173-182
- Lüttge U (1987). Carbon dioxide and water demand: Crassulacean acid metabolism (CAM), a versatile ecological adaptation exemplifying the need of integration in ecophysiological work. New Phytol., 106,593-629
- Lüttge U (2004). Ecophysiology of crassulacean acid metabolism (CAM). Ann Bot., 93,629-657
- Mooney HA, Bullock SH, Ehleringer JR (1989). Carbon isotope ratios of a tropical dry forest in Mexico. Funct Ecol., 3,137-142
- Mueller-Dombois D, Ellenberg H (1974). Aims and methods of vegetation ecology. Wiley, New York
- Nobel PS (1985a). PAR, water, and temperature limitations on the productivity of cultivated Agave fourcroydes (Henequen). J App Ecol., 22,157-173
- Nobel PS (1985b). Water relations and carbon dioxide uptake of Agave deserti – Special adaptation to desert climates. Desert Plants, 7,51-56
- Nobel PS (1988). Environmental Biology of Agaves and Cacti. Cambridge University Press, Cambridge
- Nobel PS (1991). Tansley Review No 32. Achievable productivities of certain CAM plants: basis for high values compared with C₃ and C₄ plants. New Phytol., 119,183-205
- Nobel PS, Loik ME, Meyer RW (1991). *Microhabitat and diel tissue* acidity changes for two sympatric cactus species differing in growth habitat. J Ecol., 79,167-182
- O'Leary MH (1988). Carbon isotopes in photosynthesis. Fractionation techniques may reveal new aspects carbon dynamics in plants. BioScience, 38,328-336
- Orellana R (1999). Evaluación climática. In: Garcia A, Cordova J (eds) Atlas de procesos territoriales de Yucatán. Facultad de Arquitectura, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Mexico, pp 163-182

- Osmond CB (1978). Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. Ann Rev Plant Physiol., 29,547-557
- Osmond CB, Adams III WW, Smith SD (1994). "Crassulacean acid metabolism", in: *Plant Physiological Ecology. Field Methods and Instrumentation.* Pearcy RW, Ehleringer JR, Mooney HA, Rundel PW (eds). Chapman & Hall, London, pp 255-280
- Pierce S, Winter K, Griffiths H (2002). Carbon isotope ratio and extent of daily CAM use by Bromeliaceae. New Phytol., 156:75-83
- Potvin C, Lechowics MJ, Tardif S (1990). The statistical analysis of ecophysiological response curves obtained from experiments involving repeated measures. Ecology, 71, 1389-1400
- Rico-Gray V, Puch A, Simá P (1988). Composition and structure of a tropical dry forest in Yucatan, Mexico. Int J Ecol Environ Sci., 14,21-29
- Silvera K, Santiago L, Winter K (2005). *Distribution of crassulacean acid metabolism in orchids of Panama: evidence of selection for weak and strong modes.* Funct Plant Biol, 32,397-407
- Silvera K, Santiago LS, Cushman JC, Winter K (2009). *Crassulacean acid metabolism and epiphytism linked to adaptive radiations in the Orchidaceae*. Plant Physiol., 149,1838-1847
- Skeen J (1972). An extension of the concept of importance value in analyzing forest communities. Ecology, 54,655-656
- Skillman JB, Winter K (1997). High photosynthetic capacity in a shadetolerant crassulacean acid metabolism plant. Plant Physiol, 113,441-450
- Taybi T, Cushman JC, Borland AM (2002). *Environmental hormonal and circadian regulation of crassulacean acid metabolism expression*. Funct Plant Biol, 20,669-678
- Thien LB, Bradburn AS, Welden AL (1982). *The woody vegetation of Dzibilchaltun, a Maya archeological site in Northwest Yucatan Mexico.* Middle American Research Institute, Tulane University, New Orleans
- Valdez-Hernández M, Andrade JL, Jackson PC, Rebolledo-Vieyra, M (2010). Phenology of five tree species of a tropical dry forest in Yucatan, Mexico: effects of environmental and physiological factors. Plant Soil, 329,155-171
- Vargas-Soto JG, Andrade JL, Winter K (2009). Carbon isotope composition and mode of photosynthesis in Clusia species from Mexico. Photosynthetica, 47,33-40
- White DA, Hood CS (2004). Vegetation pattern and environmental gradients in tropical dry forest of northern Yucatan Peninsula. J Veg Sc.,i 15,151-160

- Winter K, Holtum JAM (2002). *How closely do the* □¹³C *values of crassulacean acid metabolism plants reflect the proportion of* CO₂ *fixed during day and night*? Plant Physiol., 129,1843-1851
- Winter K, Holtum JAM (2005). The effects of salinity, crassulacean acid metabolism and plant age on the carbon isotope composition of Mesembryanthemum crystallinum L., halophytic C₃-CAM species. Planta, 222,201-209
- Winter K, Holtum JAM (2007). Environment or development? Lifetime net CO₂ exchange and control of the expression of crassulacean acid metabolism in Mesembryanthemum crystallinum. Plant Physiol, 143,98-107
- Winter K, Smith JAC (1996). "An introduction to crassulacean acid metabolism: biochemical principles and biological diversity". in: *Crassulacean acid metabolism*.Winter K, Smith JAC (eds) Springer, Berlin, pp 1-13
- Winter K, Aranda J, Holtum JAM (2005). Carbon isotope composition and water-use efficiency in plants with crassulacean acid metabolism. Funct Plant Biol., 32,381-388
- Winter K, Garcia M, Holtum JAM (2008). On the nature of facultative and constitutive CAM: environmental and developmental control of CAM expression during early growth of Clusia, Kalanchoë, and Opuntia. J Exp Bot., 59,:1829-1840

Capítulo III

Efecto de las variaciones estacionales en la fotosíntesis y el crecimiento sobre el éxito reproductivo de *Agave angustifolia* Haw (Agavaceae).

3.1 INTRODUCCIÓN

Los agaves son plantas monocotiledóneas, muchas de las cuales tienen su centro de origen en México, en donde muchas especies han sido domesticadas y son de importancia económica como fuentes de fibras, esteroides y bebidas alcohólicas (Nobel, 1990; Colunga-GarcíaMarín & May-Pat, 1997). Tales plantas están bien adaptadas a ambientes áridos y semiáridos y presentan el metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM por sus siglas en ingles; Nobel *et al.* 1998). Las plantas CAM fijan el CO₂ atmosférico durante la noche cuando la temperatura del aire es menor que durante el día.

Agave angustifolia es la especie de agave con distribución más amplia, ocupa una gran variedad de microambientes. Se encuentra desde Sonora hasta Costa Rica por la costa del océano Pacífico y desde ahí a Tamaulipas por la costa del Atlántico. Se encuentra creciendo en varios tipos de vegetación desde matorral de duna costera a nivel del mar hasta bosques de pino-encino arriba de 2200 m sobre el nivel del mar (Gentry, 1982). A lo largo de su distribución pude encontrarse tanto poblaciones silvestres como cultivadas. En la Península de Yucatán, esta especie exhibe un gradiente de variación morfológica relacionado a su distribución geográfica (Orellana, 1985), desde plantas de tamaño pequeño asociadas con el matorral de duna costera, a plantas de tamaño intermedio en la selva baja caducifolia, a plantas de gran tamaño en la selva subcaducifolia. Colunga-GarcíaMarín & May Pat (1996) sugieren la existencia de tres variantes de esta especie, las cuales corresponden a los diferentes hábitats en el cual crece: Matorral de duna costera (D) Selva baia caducifolia (SBC) v selva mediana subcaducifolia (SMB). De acuerdo a las evidencias morfológicas (Colunga-GarcíaMarín & May Pat, 1997) estas tres variantes pertenecen a dos ecotipos: uno que incluve a las poblaciones de D v SBC v otro que corresponde a las poblaciones de SMB. Por otro lado, Colunga-García-Marín et al (1999) encontraron una escasa variación isoenzimática dentro de las variedades cultivadas a diferencia de los altos niveles de variación en todas las variantes silvestres. Estos altos niveles de variación genética enfatizan la necesidad de preservar el germoplasma silvestre en las poblaciones naturales para un eventual incremento de la diversidad del material cultivado a través de un programa cuidadosamente diseñado. La implementación de dicho programa debe de requerir de investigación básica sobre la fisiología v

biología reproductiva de esta especie en los diversos ambientes y microambientes en donde crece.

En general, los agaves pueden propagarse por dos mecanismos: (a) la producción de semillas a través de la reproducción sexual v (b) la multiplicación vegetativa o clonación. La clonación se realiza por medio de tres formas (i) rametos producidos a partir de los rizomas de una planta adulta. (ii) brotes basales producidos en las axilas de las hojas de la roseta de una planta adulta; y (iii) bulbillos que se desarrollan en los brotes axilares de las inflorescencias (Gentry, 1982; Arizaga & Ezcurra, 1995: 2002). A pesar de que el modo más común de propagación asexual en los agaves es la producción de rametos rizomatosos o brotes basales, para A. angustifolia en condiciones naturales, tanto la producción de bulbillos como la biomasa invertida en su formación excede al de otros agaves (Szarek & Holmesley, 1996; Szarek et al 1996). Las implicaciones ecológicas así como el equilibrio entre la reproducción sexual y la propagación asexual han sido ampliamente estudiadas (Abrahamson, 1980; Bazzaz & Ackerly, 1992;). Y en varias especies clonales el balance entre la reproducción sexual y la propagación asexual es influenciada por condiciones ambientales y micromambientales como el agua y la luz (Nobel, 1992; Arizaga & Ezcurra; Szarek & Holmesley, 1996; Szarek et al., 1996; Mandujano et al., 1998)

El microambiente influye en procesos tales como la fotosíntesis y la respiración los cuales afectan la productividad vegetal (Jones, 1985). Por su parte la supervivencia y el éxito reproductivo dependen de dicha productividad primaria (Lambers y Pooter, 1992). Sin embargo, se le ha dado poca atención a los patrones de respuesta de las plantas a la heterogeneidad microambiental (Bell & Lechowicz, 1994, Cervera et al., 2007) y muchos estudios ecológicos de plantas carecen de este tipo de aproximación, la cual podría ser útil para generar la información suficiente para evaluar las tasas vitales de la población y poder aplicar los modelos de conservación de manera más efectiva (Doak & Mills, 1994). Por lo tanto los objetivos de este estudio son: (1) evaluar los efectos de la variación estacional en la temperatura, la irradiación y la disponibilidad de agua sobre la fotosíntesis y el crecimiento de Agave angustifolia Haw creciendo en dos hábitats de la Península de Yucatán. (2) determinar la contribución de estas características en la producción de semillas y bulbillos de A. angustifolia. En ambos hábitats se seleccionaron individuos creciendo en dos microambientes de luz (expuestos y sombreados). La fotosíntesis, el crecimiento y la reproducción de A. angustifolia se midieron en tres categorías de tamaño.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS.

3.2.1 Sitio de estudio.

En la Península de Yucatán se pueden distinguir tres estaciones en las cuales las condiciones de agua en el suelo difieren grandemente: la mayoría de las lluvias ocurre durante junio-octubre con alguna precipitación en la estación de nortes (noviembre a febrero) y una marcada estación de sequía (marzo a mayo; Orellana, 1999). El estudio se realizó en una localidad de matorral de duna costera, San Benito (21°19′10″ N, 89°30′40″W), y una de selva baja caducifolia, Chumhanin (21°18′N y 89°N 0′W).

La vegetación del matorral de duna costera de San Benito puede alcanzar desde 3 a 5 m y las especies más conspicuas son Opuntia dillenii (Ker Gawl) Haw, Agave angustifolia Haw, Acanthocereus pentagonus (L) Britton &Rose, Metopium brownei (Jacq) Urb. Selenicereus donkelaari (Salm-Dyck) Britton & Rose, Bravaisia berlandierana (Ness)T.F. Daniel, Sideroxylon americanum Rugby y Chrysobalanus icaco L. El sitio recibe entre 500 y 550 mm de precipitación anual. La temperatura promedio del mes más frío (enero) es 23 °C y de mayo a septiembre la temperatura fluctúa entre 25 y 28 °C. La fluctuación anual de la temperatura mensual es menor a 10 °C (Espejel, 1987). En la selva baja caducifolia de Chumhabin. la vegetación alta es de 10 a 15 m y la mayoría de los árboles pierden sus hoias durante la estación de seguía. Las especies más conspicuas son Acacia gaumeri S.F. Blake, Hampea trilobata Standl, Bursera simaruba (L) Sarg., Metopium brownei, Senna racemosa (Mill.) H.S. Irwin & Barneby, Alvaradoa amorphoides Liebm y Pithecellobium dulce (Roxb) Benth, El sitio presenta una temperatura media anual de 26 °C y una precipitación media anual de 530 mm (Durán & Omsted, 1999).

3.2.2 Microambiente.

El flujo de fotones para la fotosíntesis (FFF) se midió durante 48 h para caracterizar el ambiente lumínico de *A. angustifolia* con fotodiodos de arsenato de galio (Hamamatsu Corporation, Bridewater, New, Jearsy, EUA) previamente calibrados con un sensor de cuantos (LI190S, LI-COR, Lincoln, Nebraska, EUA), y que fueron colocados 20 mm arriba de 30 individuos expuestos y 30 sombreados en cada sitio. Para cada sitio se midieron la temperatura y la humedad relativa del aire (con una HPM45C-L Vaisala shielded probe, Campbell Scientific) en un sitio abierto. Las mediciones fueron colectadas cada cinco segundos durante 120 horas en un registrador de datos de estado sólido (CR10X, Campbell Scientific). El déficit de presión de vapor se calculó según Jones (1992) Estas mediciones se realizaron en dos épocas del año, agosto 2006 (Iluvias) y mayo 2007 (sequía).

3.2.3 Peso seco (PS).

El peso seco (PS) se determinó secando el telido en un horno a 80°C hasta que no existieron cambios en el peso. Para 10 genets (individuos) de diferente tamaño, tanto de duna como de selva, se calculó la contribución al PS en varios órganos: hojas vivas, hojas dobladas en el centro del cogollo, hojas muertas (cuando mucho el 10% de su área estaba verde), tallo, rizoma y raíz. Mediante una ecuación de regresión se calculó el PS en gramos de las hojas vivas de diferente longitud: de esta manera el total de PS puede ser estimado a partir de la longitud de hojas vivas o muertas asociado con su contribución porcentual a la biomasa (Raphael & Nobel, 1986; Nobel, 1992). Debido a que no se consideraron las plantas con hojas menores a 20 cm (se encuentran pocas en el campo), para hojas mavores o igual a 20 cm de longitud en las plantas de selva baia caducifolia la ecuación cuadrática de regresión es: y= $-0.049439L+0.005544L^2$ (r²=0.96) y para las plantas de matorral duna costera: y= -8.198166+0.459761L-0.000976L² (r²=0.83, de biológicamente, la relación debería pasar por el origen, por lo que el intercepto diferente de cero sugiere que la regresión puede ser útil para un limitado rango de valores, figura 3.1). Siendo L la longitud de la hoja y L² la longitud de la hoja al cuadrado.

3.2.4 Producción relativa de hojas y tasa de crecimiento relativo (RGR)

Las plantas fueron divididas en tres categorías de PS (20 a 100, 100 a 600 y >600 g) las cuales fueron las categorías de peso más abundantes en el campo. Se seleccionaron 10 plantas expuestas y 10 sombreadas en cada categoría de tamaño (no se encontró la categoría >600 g en sitios sombreados de duna), teniéndose en selva un total de 60 plantas y en matorral de duna costera 50. A cada individuo se le midió el tamaño y número de hojas; las hojas recién formadas se marcaron para medir el crecimiento y producción de hojas. El cálculo de la producción relativa de hojas se realizó cada mes durante un año como el número de hojas nuevas dividido entre el número total de hojas presentes (Ravetta & McLaughlin, 1996). La tasa de crecimiento relativo (RGR) se definió como [In (PS2)-In(PS1)]/∆t donde PS1 y PS2 son los pesos secos para meses sucesivos y At aquí será de un mes durante un año: Junio 2006 a mayo 2007 (Hunt, 1990). Para el cálculo de la producción de hojas y el RGR se consideraron por separado las tres categorías de peso.

3.2.5 Acidez titulable.

10

A cinco individuos expuestos y cinco sombreados de cada categoría se les tomó, antes del amanecer y después del atardecer, dos muestras de hoja con un sacabocado de 1.5 cm de diámetro interno. De acuerdo con Osmond (1994), las muestras fueron congeladas en nitrógeno líquido y posteriormente llevadas a un congelador a –80 °C. Las muestras fueron homogenizadas con un mortero, posteriormente se pusieron a hervir en 10 ml de agua destilada durante 5 minutos, se dejó enfriar y se llevaron a 50 ml titulando la solución resultante con 0.01 N de NaOH a pH 7 con un potenciómetro (Modelo 744; Metrohm Ltd; Herisau, Switzerland). Las mediciones se realizaron durante dos épocas del año: agosto 2006 (lluvias) y mayo 2007 (sequía).

3.2.6 Evaluación de la fluorescencia de la clorofila

La fluorescencia de la clorofila a fue medida con un medidor de fluorescencia portátil (MiniPAM, Walz, Alemania). La eficiencia cuántica máxima del fotosistema II (Fv/Fm) fue calculada como (Fm-Fo)/Fm la eficiencia del fotosistema II (ΦPSII) fue calculada como (Fm'-Ft)/Fm', y la reducción no-fotoquímica (NPQ) como (Fm-Fm')/Fm, donde Fo es la fluorescencia mínima cuando la hoja esta adaptada a la oscuridad, Fm es la fluorescencia máxima cuando las hojas esta adaptadas a la oscuridad después de un pulso saturante de luz, Ft es la fluorescencia mínima de una hoja iluminada, Fm' es la fluorescencia máxima de una hoja iluminada después de un pulso saturante de luz (van Klooten & Snel, 1990). Las mediciones se realizaron cada tres horas durante el período de luz. La tasa de transporte de electrones (ETR) se calculó como: ETR = Eficiencia cuántica × Flujo de fotones para fotosíntesis (FFF) \times 0.5 \times 0.84 donde el factor 0.5 se explica por la excitación tanto del fotosistema I y II y el factor 0.84 representa un valor supuesto, donde 84% de los fotones incidentes son absorbidos por la hoja. (debido a que no se cuenta con una esfera integradora para calcular la absorbancia real de la hoja dicho valor es el estandar que el medidor de fluorescencia para la clorofila usa; Gentry, 1989; Rascher et al., 2000; Luttgue et al., 2001). La tasa de transporte de electrones está correlacionada con las tasa de asimilación de CO2 de: 8 electrones transportados por mol de CO2 asimilado (Ehleringer, 1981; Rascher et al., 2000). Las mediciones se realizaron durante las dos épocas del año mencionadas anteriormente, lluvias y seguía, utilizando cinco individuos expuestos y cinco sombreados de cada categoría de peso.



Figura 3.1. Regresión cuadrática entre el tamaño de la hoja y el peso de la misma. n= 319 en selva baja caducifolia y n= 371 en matorral de duna costera.

3.2.7 Determinación del potencial hídrico de la planta y del suelo.

Se colectaron muestras de hoja de cinco individuos expuestos y sombreados de cada categoría de peso. El potencial hídrico se evaluó en fresco con un medidor de punto de rocío (WP4, Decagon Devices, Pullman, Washington). En cada sitio, se colectaron 10 muestras de suelo a una profundidad de 15 cm y se determino el potencial hídrico del suelo con el WP4. Dichas mediciones se realizaron durante las dos épocas mencionadas, lluvias y sequía.

3.2.8 Producción de flores frutos y semillas.

En cada sitio se seleccionaron individuos expuestos y sombreados de cada categoría de tamaño que estuvieran a punto de florecer. En matorral de duna costera se marcaron cinco plantas por categoría de tamaño en ambos microambientes de luz con un total de 25 plantas. En selva baja caducifolia las plantas de la categoría >600 g fue la única que tuvo inflorescencias en ambos microambientes de luz y se marcaron 10 plantas expuestas y 10 sombreadas. Para todos los

individuos marcados se registró la producción y pérdida de estructuras reproductivas durante el periodo de floración y fructificación (noviembre 2007-febrero 2008) incluyendo los bulbillos. Las mediciones fueron realizadas cada semana. Se colectaron los frutos producidos a lo largo del periodo de floración y fructificación y se cuantificó la cantidad de semillas producidas, que se consideró como la masa reproductiva.

3.2.9 Análisis estadísticos.

Para las comparaciones de las variables de la tasa de crecimiento relativo y producción de hojas se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas de dos vías: sitio (selva baja caducifolia vs matorral de duna costera), cantidad de luz que reciben las plantas (expuestas vs sombreadas). Las categorías de peso fueron analizadas por separado en cada sitio. Para el análisis de la producción de semillas y bulbillos se utilizó un ANOVA de dos vías: sitio, cantidad de luz. La producción de semillas por categoría de peso fue analizado en cada sitio por separado. Para el resto de las variables se utilizó un ANOVA de tres vías: sitio, cantidad de luz y estación y el factor categorías de peso fue analizado para cada sitio por separado. En todos los casos las medias fueron comparadas con una prueba de Tukey.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Microambiente de luz.

No se encontraron diferencias significativas en el promedio diario del flujo de fotones para la fotosíntesis (FFF) recibido por las plantas adultas de *A. angustifolia* entre sitios (P>0.05), pero si se encontró entre los microambientes de luz (P<0.0001). En el matorral de duna costera la media \pm error estándar del FFF recibido por las plantas expuestas y sombreadas fue de 81.4 \pm 2.2 % y 29.7 \pm 2.1% (respectivamente, P<0.0001) del FFF ambiental medido por arriba del dosel, y en Chumhabin fue del 82.01 \pm 3.3 y 29.23% del FFF ambiental para plantas expuestas y sombreadas respectivamente (P<0.0001).

3.3.2 Microclima.

El promedio de las temperaturas diurna/nocturna fue significativamente diferente entre estaciones (P<0.05) y entre sitios (P<0.0001, figura 3.2). La estación de lluvias presentó la menor temperatura comparada con la estación de sequía (P<0.0001). En la selva baja caducifolia se presentó la mayor temperatura comparada con el matorral de duna costera (P<0.05) No se encontraron diferencias significativas en la temperatura entre estaciones en el matorral de duna costera (P>0.05) a diferencias que en selva baja en donde la estación de sequía presentó la temperatura más elevada que durante lluvias. Durante la estación de lluvias el promedio de la temperatura ambiente

diurna/nocturna fue de 28.75 ± 0.5 °C /24.34 ± 0.2 °C para el matorral de duna costera y de 30.84 ± 0.36 / 24.36 ± 0.2 °C para la selva baja caducifolia. En la sequía el promedio de las temperaturas diurna/nocturna fue de 30.4 ± 0.3 °C/25.64 ± 0.3 °C y de 31.78 ± 0.5 °C/26.8 ± 0.3 °C para el matorral de duna costera y la selva baja caducifolia respectivamente.

Durante la estación de sequía el total del FFF fue similar entre los sitios: $40.3 \pm 0.5 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en el matorral duna costera y de $43.7 \pm 0.5 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en la selva baja caducifolia (P>0.05). En la estación de lluvias el total del FFF se redujo aproximadamente un 10 % comparado con la estación de sequía, en el matorral duna costera el total del FFF fue de $35.16 \pm 3.2 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ y en la selva baja caducifolia de $38.19 \pm 3.2 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$. El déficit de presión de vapor (δ_e) fue significativamente diferente entre estaciones (P<0.001), pero no entre sitios (P>0.05). Durante la estación de lluvias, el máximo δ_e fue de $1.82 \pm 0.22 \text{ kPa}$ (promedio del día) para el matorral de duna costera y de $2.07\pm0.05 \text{ kPa}$ (P>0.05) para la selva baja caducifolia. Durante la estación de sequía el mayor δ_e fue de 3.63 ± 0.06 y de 4.3 ± 0.11 para el matorral de duna costera y selva baja caducifolia respectivamente (P>0.05), aproximadamente un 50% más que durante la temporada de lluvias.

3.3.3 Peso seco y tasa de crecimiento relativo (RGR).

El peso seco de las hojas muertas en las plantas pequeñas (número promedio de hojas menor de 20) representa el mayor porcentaje del peso seco total (30%), tanto en plantas de selva baja como del matorral de duna costera (Figura 3.3 C). Para las plantas más grandes (número promedio de hojas mayor de 20), el peso seco del tallo representa la mayor fracción del peso seco total, representando el 45% en plantas del matorral de duna costera y el 33% en plantas de selva baja caducifolia (Figura 3.3 D). Las hojas muertas de dichas plantas representan aproximadamente el 11% del peso seco total en las plantas de selva baja caducifolia, mientras que en las plantas del matorral de duna costera al aumentar el número de hojas vivas (y por lo tanto mientras más grande la planta) disminuye el porcentaje que representan las hojas muertas (Figura 3.3 C). No hubo diferencias significativas en los pesos de las plantas entre los sitios ni entre los microambientes de luz (P>0.05).

La tasa relativa de crecimiento (RGR, por sus siglas en ingles) fue significativamente diferente entre sitios, entre las estaciones y entre los microambientes de luz (Figura 3.4, Anexo Tabla 1). La mayor RGR se presentó durante la estación de nortes comparado con las otras dos estaciones (p<0.05). Durante esta estación las plantas que se encuentran creciendo al 80% del FFF en el matorral de duna costera

presentaron en promedio una RGR de 0.094±0.002 g g⁻¹ mes⁻¹y las plantas que se encuentran creciendo al 30% del FFF de 0.046±0.002 g g⁻¹ mes⁻¹(P<0.05; Figura 3.4 B). En cambio las plantas de la selva baia caducifolia el promedio de la RGR fue de 0.109±.006 g g⁻¹mes⁻¹y de 0.076±0.006 g g⁻¹mes⁻¹ para las plantas que se encuentran creciendo al 80% v al 30% del FFF respectivamente (P<0.05, Figura 3.4 C), en promedio un 24% más que las plantas del matorral de duna costera (P<0.001). La interacción estación-sitio y estación-luz fueron significativamente diferentes (P<0.0001). Durante la estación de nortes las plantas de selva baja caducifolia presentaron la mayor RGR comparada con las plantas del matorral de duna costera (P<0.0001). La única estación donde la RGR presentó diferencias significativas en los dos microambientes de luz fue durante la estación de nortes, donde las plantas que se encontraban creciendo al 80% del FFF presentaron la mayor RGR (P<0.0001). Durante la seguía y las lluvias no se distinguieron diferencias significativas en la RGR entre los microambientes de luz en ambos sitios (p>0.05). En ninguno de los sitios se distinguieron diferencias significativas en la RGR entre las categorías de peso (P>0.05)

3.3.4 Producción relativa de hojas.

Existen diferencias significativas en la producción relativa de hojas entre los sitios y entre estaciones (P<0.001; Figura 3.5, Anexo Tabla 2). Las plantas de selva baja presentaron la mayor producción relativa de hojas en comparación con las plantas del matorral duna costera. La estación de nortes fue la que presentó la mavor producción relativa de hojas y la estación de seguía la que presentó la menor producción de hojas (P<0.001).No se distinguieron diferencias significativas en la producción relativa de hojas entre las plantas creciendo al 80% FFF y las plantas creciendo al 30% del FFF (P>0.05. Figura 3.5. Anexo Tabla 2). Las interacciones significativamente diferentes fueron la de estación-sitio, estación-luz y estación-sitio-luz (P<0.001, Anexo Tabla 2). La diferencia en la producción relativa de hojas entre sitios se observa al inicio de la estación de lluvias y durante la estación de nortes (P<0.001), en ambas estaciones las plantas de la selva baja caducifolia presentaron la mayor producción relativa de hojas (P<0.001). La producción relativa de hojas en cada microambiente de luz vario significativamente entre estaciones siendo la estación de nortes la que presento la mayor producción relativa de hojas para ambos microambientes de luz (P<0.001) Al inició de la estación de lluvias las plantas que se encontraban creciendo al 30% del FFF presentaron una mayor tasa de producción de hojas en comparación de las plantas creciendo al 80% del FFF. Sin embargo, esta diferencia solo se observa en las plantas de selva baja caducifolia (P<0.001). En el resto de las estaciones no se presentó diferencias significativas entre los dos microambientes de luz en ninguno de los sitios (P>0.05). Durante la estación de seguía las plantas creciendo al 30% del FFF

de las categorías 20-100 g de ambos sitios no presentaron una producción de hojas (Figura 3.5).



Figura 3.2. Curso diario de: (A, D) la temperatura del aire, (B, E) el flujo de fotones para la fotosíntesis y (C, F) déficit de presión de vapor durante las estaciones de sequía (A, B, C) y lluvias (D, E, F)

3.3.5 Acidez titulable.

La acidez titulable fue significativamente diferente entre las estaciones, entre microambientes de luz, y entre sitios (P<0.05, Figura 3.6, Anexo Tabla 3). El mayor incremento de acidez titulable se presentó en la estación de lluvias en comparación con la estación de sequía (P<0.001). La mayor acidez se presentó en las plantas que crecen al 80% del FFF en comparación con las plantas que crecen al 30% del FFF (P<0.05). Esta diferencia entre los microambientes de luz se presentó únicamente en las plantas del matorral de duna costera (P<0.05) durante la temporada de lluvias. En las plantas de selva baja caducifolia no se distinguen diferencias significativas de acidez entre los microambientes de luz en esta misma estación (P>0.05). Durante la estación de lluvias las plantas de selva baja caducifolia presentaron la mayor acidez en comparación con las plantas del matorral duna costera (P<0.05). El promedio de la acidez titulable fue de 208.84 ± 0.53 mmol H⁺m⁻² para las plantas del matorral de

duna costera y de la selva baja respectivamente. Durante la sequía el promedio de la acidez titulable fue de $46.61\pm0.53 \text{ mmol H}^{+}\text{m}^{-2}$ en el matorral de duna costera y de $45.07\pm0.63 \text{ mmol H}^{+}\text{m}^{-2}$ en selva baja caducifolia, lo que representa, respectivamente, un 81% y 85% menos que durante lluvias (P<0.001). Durante la sequía no se encontraron diferencias en la acidez titulable entre los microambientes de luz ni entre sitios (p>0.05). No se distinguen diferencias significativas en la acidez tisular entre las categorías de peso (P>0.05) en ninguno de los sitios.



Figura 3.3. Distribución del peso seco entre varias partes de la planta. Plantas de selva baja caducifolia n = 11 (\bigcirc) y plantas de matorral de duna costera n=8 (\bigcirc)


Figura 3.4. Precipitación mensual en la selva baja y en el matorral de duna costera (A). Tasa de crecimiento relativo a lo largo de un año en plantas de matorral de duna costera (B) y en plantas de selva baja (C) cuando se encontraban creciendo en dos microambientes de luz: al 80% del FFF y al 30% del FFF. Los valores son la media \pm ES, n=10



Figura 3.5. Producción relativa de hojas en plantas en matorral de duna costera (A y C) y en plantas de selva (B y D) en dos microambientes de luz: 80% del FFF (A y B) y al 30% del FFF (C y D). Los valores son la media \pm ES, n= 10

3.3.6 Evaluación de la fluorescencia de la clorofila.

Durante la estación de lluvias, la eficiencia cuántica máxima del fotosistema II (F_v/F_m) al amanecer fue de 0.7 a 0.8 en ambos sitios en los dos microambientes de luz. En la estación de sequía el F_v/F_m al amanecer fue de 0.4 a 0.5 en ambos sitios y en ambos microambientes de luz, en promedio un 40% menor que durante lluvias. Tanto en la estación de lluvias como en la estación de sequía existió un decremento en la eficiencia del fotosistema II (Φ PSII) al medio día acompañado de un incremento en la reducción no fotoquímica (NPQ) en ambos sitios. Durante la estación de lluvias el decremento del Φ PSII en las plantas del matorral de duna costera fue aproximadamente del 50% cuando crecieron al 80% del FFF y de tan solo un 15% aproximadamente cuando crecieron al 30% del FFF (P<0.001, Figura 3.7). En cambio en las plantas de selva baja caducifolia el decremento del Φ PSII fue del 40% y del 20% para las plantas que se encontraban creciendo al 80% y al 30% del FFF respectivamente (P>0.05).

En la estación de sequía el decremento en el Φ PSII al medio día fue del 10% tanto en matorral de duna costera como en selva baja caducifolia (P>0.05). Sin embargo no se encontraron diferencias

significativas en el decremento del ΦPSII en las plantas que se encontraban creciendo en los dos microambientes de luz (P>0.05). Al final de periodo de luz el Fv/Fm incrementó a valores similares al amanecer en ambas estaciones.

La tasa de trasporte de electrones (ETR) fue menor durante la estación de seguía en comparación con la estación de lluvias (P<0.001: Figura 3.8). En ambas estaciones las plantas que se encontraban creciendo al 80% del FFF presentan la mayor ETR (P<0.05). Durante la estación de lluvias el punto de saturación de luz fue significativamente diferente entre las plantas que se encuentran creciendo en los dos microambientes de luz en ambos sitios (P<0.001). El punto de saturación de luz durante la estación de lluvias en las plantas del matorral de duna costera que se encontraban creciendo al 80% del FFF fue de $30\pm3.84 \text{ }\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ a un FFF de 366 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y de 18 ± 4 µmolm⁻²s⁻¹ a un FFF de 254 µmolm⁻²s⁻¹ para las plantas creciendo al 30% del FFF. En la selva baja el punto de saturación de luz durante esta estación fue de 30±3.6 µmol⁻²s⁻¹ a un FFF de 573 µmolm⁻²s⁻¹ y de 16 ±1.0 μmolm²s⁻¹ a un FFF de 254 μmolm²s⁻¹ para las plantas creciendo al 80% y al 30% del FFF respectivamente. En ambos sitios y en ambas estaciones no se distinguieron diferencias significativas entre las categorías de peso (P>0.001).



Figura 3.6. Acidez titulable en individuos de A.angustifolia de diferente categoría de peso creciendo en dos microambientes de luz en matorral de duna costera durante la estación de lluvias(A) y durante sequía (C) y en selva baja caducifolia durante lluvias (B) y durante sequía (D). Los valores son la media \pm ES. n=10

3.3 7 Determinación del potencial hídrico.

El potencial hídrico del suelo (Ψ_{suelo}) fue mayor en la selva baja caducifolia que en el matorral duna costera (P<0.001). Durante la estación de sequía en el matorral de duna costera el potencial hídrico después del medio día fue de -52.8 ±1.6 MPa en los sitios expuestos y en los sitios sombreados fue de -7.41 ± 1.6 MPa (P<0.001), para la selva baja caducifolia fue de -22.5 ± 0.050 MPa y de -6.53 ± 0.050 MPa para los sitos expuestos y sombreados respectivamente (P<0.001). Durante la estación de lluvias no hubo diferencias significativas en el Ψ_{suelo} entre el matorral de duna costera y la selva baja caducifolia (P>0.05), ni entre los microambientes de luz en ambos sitios (P>0.05). El Ψ_{suelo} en ambos sitios y en ambos microambientes de luz fue cercano a la capacidad de campo (-0.05MPa).

El potencial hídrico de las hojas de *A. angustifolia* fue significativamente diferente entre sitios y entre estaciones. El mayor Ψ_{hoja} se presento durante la estación de lluvias comparado con el Ψ_{hoja} en sequía (P<0.001). Durante la estación de lluvias las plantas que crecen en la selva baja caducifolia presentaron los mayores Ψ_{hoja} en comparación con las plantas que crecen en el matorral de duna costera (-0.9016 ± 0.05 y -1.165 ± 0.05 MPa respectivamente, P<0.001). En esta misma estación no se presentaron diferencias significativas entre las plantas que se encontraban creciendo al 80% del FFF y al 30% FFF en cuanto al Ψ_{hoja} tanto en selva baja como en el matorral de duna costera (P>0.05).

Durante la estación de sequía no se encontraron diferencias significativas en el Ψ_{hoja} entre las plantas del matorral duna costera y las de selva baja (P>0.05). Durante esta estación las plantas que se encentraban creciendo al 80% del FFF presentaron los menores Ψ_{hoja} en comparación con las plantas que se encontraban creciendo al 30% del FFF (P<0.05). El Ψ_{hojas} de las plantas de selva baja caducifolia fue de -2 \pm 0.3 MPa y -1.2 \pm 0.3 MPa para las plantas que se encuentran creciendo al 80% y al 30% del FFF respectivamente (P<0.05). Las plantas del matorral duna costera tuvieron -2.42 \pm 0.5 MPa y -1.23 \pm 0.5 MPa para las plantas creciendo al 80% y 30% del FFF respectivamente (P<0.05).

3.3.8 Producción de semillas y bulbillos.

La producción de semillas fue significativamente diferente entre sitios, pero no entre los microambientes de luz y la categoría de peso (Figura 3.9, Anexo Tabla 4). Las plantas de selva baja caducifolia produjeron un mayor número de semillas en comparación con las plantas del matorral de duna costera (P<0.05). En selva baja caducifolia solo se encontraron plantas con inflorescencia en la categoría de < 600 g, sin embargo no se encontraron diferencias significativas entre los microambientes de luz (P>0.05). En el matorral de duna costera tampoco se presentaron diferencias significativas entre los microambientes de luz y las categorías de peso (P>0.05).

No se encontraron diferencias significativas en la producción de bulbillos entre los microambientes de luz ni entre los sitios (Figura 3.9; Anexo Tabla 5, P<0.05). En el matorral duna costera las plantas de la categoría de peso de <600 g presentan una menor producción de bulbillos en comparación con la categoría de peso de 100-600 g (P<0.05).



Figura 3.7. Respuesta de la eficiencia del PSII (Φ PSII símbolos pequeños y Fv/Fm símbolos grandes, A, B, E y F), y la reducción no fotoquímica (NPQ; C, D, G, H) a lo largo del día en plantas de diferente categoría de peso en matorral de duna costera y en selva baja. .Los símbolos blancos representan las plantas que se encuentran creciendo al 80% del FFF y los símbolos oscuros las plantas que se encuentran creciendo al 30% del FFF. Los valores son la media ±ES, n= 5 por sitio por categoría de peso.



Figura 3.8 Curva de luz de la tasa de transporte de electrones (ETR) en plantas de A. angustifolia de diferentes categorías de peso creciendo al 80% y al 30% del FFF en. matorral duna costera durante la estación de lluvias (A) y durante la estación de sequía (C) y en selva baja durante la temporada de lluvias (B) y durante la temporada de sequía (D).Los símbolos blancos representan las plantas que se encuentran creciendo al 80% del FFF y los símbolos oscuros las plantas que se encuentran creciendo al 30% del FFF. Los valores son la media \pm ES. n= 5 por sitio por categoría



Figura 3.9. Producción de semillas(A y C) y bulbillos (B y D) en plantas de A. angustifolia de diferente categoría de peso en el matorral de duna costera (A y B) y selva baja (C y D) creciendo en dos microambientes de luz

3.4 DISCUSIÓN.

En las plantas con fotosíntesis CAM la asimilación nocturna de CO_2 conduce a un incremento en el peso seco de la planta, una medición convencional de productividad. La asimilación nocturna de CO_2 y por lo tanto la productividad pueden estar determinados por varios factores ambientales En el presente trabajo se encontró que en los ambientes en donde *Agave angustifolia* presentó una mayor asimilación nocturna de CO_2 y una mayor productividad son los ambientes en donde la especie presentó la mayor producción de semillas y bulbillos.

Muchos factores pueden estar afectando la tasa de crecimiento relativo (RGR) y la actividad fotosintética en *Agave angustifolia*. Estos factores pueden ser el tamaño de la planta, la disponibilidad de luz, la temperatura, la disponibilidad de nutrimentos en el suelo, etc (Hunt, 1990; Lambers & Hunt, 1992). En varios agaves y otras especies CAM el tamaño y la disponibilidad de agua son los principales factores que afectan la tasa de crecimiento relativo y la capacidad fotosintética (Raphael & Nobel, 1986; Nobel & Quero, 1986; Pfitsc & Smith, 1998; Zots, 2000; Zotz *et al.*, 2002, Cervera *et al.*, 2007). En este estudio la RGR y la actividad fotosintética no estuvieron en función del tamaño de

la planta, sin embargo si se encontraron diferencias entre estaciones y entre los microambientes de luz.

La mayor RGR y producción de hojas se presentaron durante la temporada de nortes y la menor se presentó durante la temporada de seguía. Este incremento y disminución en el crecimiento coinciden con los periodos de disponibilidad (nortes y lluvias) y escasez (seguía) de aqua reportados en ambos sitios durante el periodo de medición (Figura 3 A). Para la mavoría de las especies de ambientes áridos la máxima tasa de crecimiento ocurre durante los periodos de mayor precipitación (Ravetta & McLaughlin, 1996, Pfitsch & Smith, 1998; Cervantes et al., 2005, Cervera et al., 2007). La diferencia entre la RGR y la producción de hoias entre sitios también coinciden con las diferencias en precipitación en ambos sitios. La mayor RGR y producción de hojas se presentó en las plantas de selva baja caducifolia comparada con las plantas del matorral de duna costera. En la selva baja caducifolia la precipitación promedio anual es 48% mayor que en el matorral duna costera (Figura 3 A). Por otro lado, A. angustifolia al igual que otras especies CAM cuando se encuentran creciendo a lo largo de un gradiente de aridez presenta un incremento en el uso de la vía CAM en los sitios más secos (Ricalde et al: en publicación). Las plantas CAM se caracterizan por presentar un crecimiento lento debido al alto costo energético de convertir el CO2 en ácido málico y almacenarlo en la vacuola para su posterior desacidificación en la mañana. Por lo que el incremento en la actividad CAM de A. angustifolia en el matorral de duna costera podría explicar también el menor crecimiento comparada con las plantas de la selva baja.

Debido al incremento en la RGR y producción de hojas que se encontró en los individuos que crecen al 80% del FFF comparada con los que crecen al 30% del FFF en ambos sitios, se puede decir que los microambientes óptimos de luz para el crecimiento de esta especie son los sitios más expuestos durante la temporada de nortes, cuando se encuentra disponible el agua y las temperaturas nocturnas son más frías (<20) que el resto del año. Resultados similares fueron encontrados en *Hesperoloe funifera* (Koch) Trel. (Agavaceae) en donde el crecimiento disminuyó conforme disminuye la disponibilidad de luz (Ravetta y McLaughlin, 1996) al igual que en otras especies CAM (Nobel, 1988; Cervera *et al.*, 2007).

El mayor incremento de acidez tisular y la mayor tasa de transporte de electrones se presentaron en la temporada de lluvias en las plantas que se encontraban creciendo al 80% del FFF. Nobel & Quero (1986) encontraron que la disponibilidad de agua es la variable más importante que determina la productividad de *A. lechuguilla* y la disponibilidad de luz la segunda. Para varias especies de agaves el incremento máximo en la acidez titulable se presenta en un FFF de aproximadamente 30 mol m⁻² d⁻¹ (Nobel, 1988). A pesar que durante la temporada de seguía los individuos expuestos recibieron

aproximadamente 28 mol m⁻² d⁻¹ de FFF presentan una menor acidez titulable y una menor tasa de transporte de electrones que durante la temporada de lluvias. Esto puede deberse a las altas temperaturas registradas durante la estación de seguía además de la poca disponibilidad de agua en el suelo (Ψ_{suelo} de hasta -52.8 y -22.5 Mpa en el matorral de duna costera y selva baja caducifolia respectivamente) y al mayor déficit de presión de vapor (50% mayor que durante la temporada de Iluvias). Para que ocurra la apertura estomática y por consiguiente la asimilación de CO2 las plantas deben de estar bien hidratadas (Nobel, 1985b). En A. deserti después de 7 días de seguía la conductancia estomática disminuve significativamente (Nobel, 1976, 1977). En A. fourcrovdes v A. lechuquilla después de 11 días de seguía la asimilación de CO₂ se reduce 99% en el día y un 76% durante la noche (Nobel, 1985a, 1986). Por otro lado se ha reportado que en varias especies CAM terrestres creciendo en condiciones de estrés hídrico la apertura estomática puede retrasarse durante la noche reduciendo la cantidad de ácido acumulado (Nobel, 1988; Andrade & Nobel, 1997; Cervantes et al., 2005).

seguía, comparado con la temporada de lluvias (23% y 12% menor en el matorral de duna costera y selva baja caducifolia respectivamente) fue resultado de la disminución en la eficiencia de captura de la energía de excitación por los centros de reacción abiertos del PSII y en la reducción fotoquímica (αP) (ΦPSII= Fv'/Fm'x αP: Genty et al., 1989). Además, durante la estación de seguía se presentó un incremento en el NPQ al medio día sobre todo en el matorral duna costera, lo que indica que el estrés hídrico tanto espacial como temporal (por las diferencias en la precipitación entre estaciones y entre sitios) induce un incremento en la reducción no fotoquímica (NPQ). Esta disminución del ФPSII v el incremento del NPQ en la temporada de seguía y en el sitio con la menor disponibilidad de aqua (duna costera) fue más evidente en las plantas creciendo al 80% del FFF, lo que sugiere que las plantas con la menor disponibilidad de aqua estuvieron expuestas a un exceso de energía mayor cuando estuvieron creciendo en sitios expuestos que cuando estuvieron creciendo en sitios más sombreados. El incremento del NPQ puede ser un mecanismo para ayudar a disipar el exceso de energía disminuyendo la tasa de transporte de electrones (ETR) necesarios para la producción de ATP y NADPH (Mahave & Nobel, 1987) lo cual concuerda con la disminución en la ΔH^+ durante la estación de seguía y en el sitio más seco (Figura 6 y 8). Se ha reportado que a una menor ΔH^{*} , lo que significa una menor disponibilidad de CO₂ durante la fase III de CAM, una mayor cantidad de energía debe de ser disipada (Ademas & Osmond; 1988; Skillman & Winter, 1997; Baker et al., 1998). La disminución en el ΔH^{\dagger} puede ser resultado de la disminución en la apertura estomática

Estos resultados indican que la disminución en la disponibilidad de aqua en A. angustifolia afecta al PSII e incrementa la susceptibilidad de fotoinhibición sobre todo en plantas creciendo a altas intensidades de luz. El término de fotoinhibición ha sido usado para incluir no sólo fotodaño del aparato fotosintético, el cual es asociado con la degradación de la proteína D1 y es un proceso irreversible, sino también a algunos mecanismos de fotoprotección, los cuales disminuven la eficiencia del PSII pero son reversibles (Lu et al., 2003). El hecho que durante la temporada de lluvias la disminución de ΦPSII al medio día se recuperó al atardecer indica una fotoinhibición reversible. Por lo tanto, la fotoinhibición en A. angustifolia puede atribuirse a procesos de fotoprotección y no a fotodaño. Entre los sistemas de protección se encuentra la disipación térmica del exceso de energía a través del ciclo de las Xantofilas (Deming-Adams & Adams 1996). La NPQ ha sido asociada con el inicio de la rápida de-expoxidación de la violaxantina a antheroxantina y zaexantina (ciclo de las Xantofilas; Lu et al., 2003; Pieters et al., 2003). Sin embargo, durante la seguía aunque existe una recuperación de la eficiencia del PSII esta solo fue de aproximadamente 0.5 lo que indica un cierto grado de fotoinhibición, durante la temporada de poca disponibilidad de aqua.

Durante 2007 en la selva baja caducifolia se produjeron más semillas y bulbillos que en el matorral de la duna costera. Esto puede ser el resultado de diferencias en la disponibilidad de recursos entre los sitios. Tradicionalmente los factores ambientales que tienen la mayor influencia sobre la floración de especies monocárpicas perennes son: el fotoperiodo y la cantidad total de radiación: las variaciones estaciónales en la temperatura y las variaciones en la disponibilidad de agua, los cuales puede afectar la fotosíntesis y, por lo tanto la productividad (Vince-Prue, 1983). En varias especies CAM las tasas de asimilación nocturna de CO₂ están asociados con un mayor porcentaje de plantas que florecen (Nobel, 1988; Tissue & Nobel, 990). En A. deserti se encontró que el 70% de sus carbohidratos almacenados son utilizados para la floración pero el 30% restante que necesita proviene de la fotosíntesis durante la floración, y el peso seco final de la inflorescencia aproximadamente iguala a la productividad fotosintética total anual de una planta madura (Nobel, 1977; Tissue & Nobel, 1990). Además, en varios Agaves las variaciones en la asimilación de CO2 están fuertemente correlacionadas con la disponibilidad de agua (Nobel, 1984; Nobel & Hartosock, 1986 y Nobel, 1987).

Por otro lado, el crecimiento de las enormes inflorescencias que producen los agaves requiere de grandes cantidades de agua, la cual proviene de la traslocación de las hojas (Nobel, 1987, 1988). Por ejemplo, en *A. deserti* desde el brote de la inflorescencia hasta la producción de semillas viables, 18 kg de agua entran a la inflorescencia, de los cuales 10.8 kg se va a las ramas con flores y la mitad de éstos se pierde por transpiración durante la fructificación hasta la senescencia de los mismos (Nobel, 1977). Además en esta misma especie el porcentaje

anual de plantas que pueden florecer esta positivamente correlacionado con los días húmedos que ocurrieron aproximadamente dos años antes de la floración (Nobel, 1987, 1988; 1992; Tissue & Nobel, 1990). En el presente estudio las plantas de selva baja caducifolia durante la estación de lluvias presentaron un Ψ_{hoja} aproximadamente 23% mayor que las plantas del matorral de duna costera. Por otro lado, en el 2005 la precipitación anual en el matorral de duna costera fue 54% menor que en la selva baja caducifolia (CONAGUA). Lo que podría explicar la mayor producción de semillas y bulbillos en la selva baja caducifolia comparado con las plantas del matorral de duna costera. También debemos tomar en cuenta la oscilación en el porcentaje de plantas que pueden florecer año con año. En *A. deserti* un año con un alto porcentaje de floración viene seguido de un año con un bajo porcentaje (Nobel, 1992)

No se encontraron diferencias significativas en la producción de semillas y bulbillos entres los dos microambientes de luz. Sin embargo las plantas de selva baja caducifolia tienden a producir más semillas cuando las plantas se encuentran más expuestas. Esto posiblemente se deba al incremento de la cantidad de recursos necesarios para la floración v fructificación al incrementar el CO₂ asimilado (Andrade & Nobel, 1996). Por otro lado la mayor producción de bulbillos tiende a encontrarse en las plantas más sombreadas en comparación con las plantas expuestas, lo que sugiere que una relación inversa podría existir entre la energía asignada a la reproducción sexual vs la energía asignada a la propagación vegetativa. En varios agaves se ha reportado que plantas que producen pocos bulbillos producen frutos con más semillas y viceversa (Hodegson et al., 1989; Arizaga & Ezcurra, 1995; Szarek et al., 1996; Szarek & Holmesley, 1996). Se ha sugerido que la producción de bulbillos puede actuar como un mecanismo para recuperar los recursos que han sido movilizados a la inflorescencia, v así incrementar la probabilidad del éxito reproductivo del genet (Arizaga & Ezcurra, 1995).

En este estudio las plantas de *A. angustifolia* de la selva baja caducifolia que florecieron fueron las que pesaron más de 600gr. Se ha reportado que antes que ocurra la floración, la roseta de los agaves debe de alcanzar un tamaño mínimo (Tissue & Nobel, 1990), y como se ha notado en otras plantas la probabilidad de florecer incrementa con el tamaño (Burd *et al.*,2006). Por ejemplo, la roseta de *A. deserti* tiene que alcanzar un peso seco de >1000 g de peso seco para florecer, y estas rosetas que florecen tienen más carbohidratos no estructurales que las que no florecen. Lo que sugiere que se debe de alcanzar un nivel crítico de carbohidratos para que ocurra la floración. (Tissue & Nobel, 1990).

Sin embargo, en la duna costera las tres categorías de peso estudiadas (20-100g, 100-600 g y >600 g) florecieron. En varios agaves se ha observado que rosetas pequeñas pueden florecer si se encuentran conectadas por el rizoma a rosetas más grandes que se encuentren floreciendo. Se ha sugerido que el rizoma funciona como un conducto de sustancias o condiciones químicas que disparan los procesos de floración (Nobel, 1987; Tissue & Nobel, 1990; Burd *et al.*, 2006). Debido a la naturaleza arenosa del suelo presente en la duna costera, los agaves pueden desarrollar una mayor cantidad de rizomas de gran extensión, por lo que es posible encontrar una gran cantidad de plantas conectadas entre si, incluso a distancias de 5 a 6 m (observaciones personales). En la selva baja caducifolia las plantas conectadas por el rizoma se encuentran a no más de 1 m (observaciones personales).

En *A. angustifolia* la cantidad de semillas y bulbillos producidos es regulada por factores ambientales como en otras especies con reproducción clonal (Arizaga & Ezcurra, 2002). La disponibilidad de agua parece ser el principal factor que afecta la tasa de asimilación de CO_2 y crecimiento de *A. angustifolia* y por lo tanto la acumulación de recursos necesarios para la producción de la costosa inflorescencia. A pesar de que la luz no afecta de manera significativa la producción de semillas y bulbillos si afecta la tasa de crecimiento relativo y la asimilación de CO_2 , por lo que se puede sugerir que al igual que en otros agaves la luz es el segundo factor que afecta la productividad de esta especie. Por lo tanto la producción de semillas y bulbillos (y seguramente rametos) podría reflejar la habilidad de la planta para acumular carbono y así crecer en un particular año y utilizar el carbono acumulado en la producción de la inflorescencia.

La combinación de la propagación vegetativa y la reproducción sexual puede conferir al género un alto potencial evolutivo. Por un lado la propagación vegetativa permite la supervivencia de la población debido al establecimiento de genotipos ya existentes y por otro la recombinación sexual permite una radiación adaptativa dentro de nuevos ambientes heterogéneos, contribuyendo a promover la evolución (Szarek & Holmesley; 1996). Hay que considerar que la propagación clonal de un genet en condiciones naturales pude incrementar la oportunidad de reproducción sexual de un solo genet, el cual puede reproducirse repetidamente, en diferentes tiempos y en diferentes lugares, a partir de los ramets que lo forman (Cook, 1985). Sin embargo, el uso de bulbillos para la propagación clonal en los cultivo de A. angustifolia esta ocasionando un decremento en la variación genética de dichos cultivos (Szarek & Holmesley; 1996; Colunga-Garcia Marin et al.. 1999). Por lo tanto el preservar el germoplasma en las poblaciones silvestres es de suma importancia para incrementar la diversidad del material cultivado.

Una manera de conservar la diversidad genética de *A. angustifolia* es preservar los ambientes en donde se favorece el crecimiento y reproducción de esta especie. En el presente trabajo se encontró que en la selva baja caducifolia es en donde la especie presenta la mayor ganancia de carbono, el mayor crecimiento y la mayor producción de semillas y bulbillos lo que podría indicar la necesidad de preservar dichos ecosistemas para mantener la diversidad genética de dicha especie. Debido a la variación anual en la reproducción sexual que presentan los agaves es necesario realizar estudios a lo largo de varios años. Además es necesario llevar a cabo estudios en una mayor diversidad de ambientes ya que esta especie es la de mayor distribución del género. Además es necesario realizar estudios del establecimiento y crecimiento de plántulas en condiciones naturales así como los requerimientos ambientales óptimos para dicho establecimiento y crecimiento.

3.5 REFERENCIAS.

- Adams, W.W III.and B. Osmond (1988). Internal CO2 supply during photosynthesis of sun and shade grow plants in relation to photoinhibition. Plant Physiology., 86, 117-123.
- Abrahamson, WG. (1980). *Demography and vegetative reproduction, in Demographic and evolution in plant population*. Botanial monographs, Solbring, O (ed). Blackwell, Oxford. Pp89-106.
- Andrade JL. and P.S. Nobel (1996). *Habitat, CO2 uoptake and growth* fort the CAM epiphytic cactus Epiphyllum phyllanthus in a Panamian tropical forest. Journal of Tropical Ecology, 12, 291-306.
- Andrade JL. and P.S. Nobel (1997) Microhabitas and water relations of epiphytic cacti and ferns in a lowland neotropical forest. Biotropica 29:261-270
- Arizaga, A and E. Ezcurra (1995). *Insurance against reproductive failure in semalparus planta flowering stalks*. Oecologia, 1001, 329-334
- Arizaga, A and E. Ezcurra (2002). Propagation mechanism in Agave macroantha (Agavaceae), a tropical arid-land succulent rosette. American Journal of Botany, 89,632-641.
- Barker, D.H., B.A. Logan, W.W. Adams III and B. Demming-Adams (1998). Photochemestry ans xanthophylls cycle-dependet energy dissipation in differently oriented cladodes of Opuntia stricta during the winter. Australian Journal of Plant Physiology, 25, 05-104.
- Bazzaz, F.A. and D.D. Ackerly (1992). "Reproductive allocation and reproductive effort in plants", in Seed. *The ecology of regeneration in plant communities*, Fenner M (ed). CAB International Wallinggford. pp 1-22.
- Bell, DL. and MJ. Lechowicz (1994). Spatial heterogeneity at small scales and how plants respond to it. Academic Press, New York
- Burd, M., J. Read, G.D. Sanson and T. Jaffre (2006). Age-size plasticity for reproduction in monocarpic plant. Ecology, 87 (11), 2755-2764.
- Cervantes E.S., E.A. Graham and J.L. Andrade (2005). Light microhabitats, growth and photosynthesis of an epiphytic bromeliad in a tropical dry forest. Plant Ecology, 179, 107-118.
- Cervera J.C., J.L. Andrade, E.A. Graham, R. Durán, P.C. Jackson and J.L. Simá (2007). *Photosynthesis and optimal light microhabitats for rare cactus, Mammillaria gaumeri, in two tropical ecosystems.* Biotropica 39, 620-627.
- Colunga-García Marín P., Estrada-Loera, E. and May-Pat (1996). Paterns of morphplogical variation, diversity, and domestication of wild and cultivated populations of Agave in Yucatán, México. American Journal of Botany, 83, 1069-1088.
- Colunga-GarcíaMarín, P and F. May-Pat (1997). Morphoplogical variation of Henequén (Agave fourcroydes, Agavaceae) germplasm and its wild ancestor (A. angustifolia) under uniform growth conditions: diversity and domestication. American Journal of Botany, 84, 1449-1465.

- Colunga-GarcíaMarín, P. (1998). Origen variación y tendencies evolutivas del henequén (Agave fourcoydes Lem). Boletín de la Sociedad Botánica de México, 62, 109-129
- Colunga-GarcíaMarín, P., J. Coello-Coello, L.E. Eguarte and D. Piñero (1999). Izozymatic variation and phylogenetic relationships between henequén (Agave fourcroydes) and its wild ancestor A. angustifolia (Agavaceae). American Journal of Botany, 86, 115-123.
- Cook, E.E. (1985). "Growth and development in clonal plants populations" in *Population biology and evolution of clonal organism*, Jackson, J.B.C., W. Buss and R.E. Cook (eds). Yel University Press. New Harven Connecticut, USA. pp. 259-300.
- Demming-Admas, B. and W.W. Adams III (1996). The role of xanthophylls cocle carotenoids in protection of photosynthesis. Trends in Plant Science, 1, 21-26
- Doak, D.F.and L.S. Mills (1994) A Useful Role for Theory in Conservation. Ecology: Vol. 75, No. 3, pp. 615-626.
- Durán, R. and E I. Olmsted (1999). "Vegetación de la Península de Yucatán". En: Atlas territorial de la Península de Yucatán, Garcia A, and J.Cordova (eds). Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México. pp 787-794.
- Ehleringer, J. (1981). *Leaf absorptances of Mohave and Sonoran desert plants*. Oecologia, 49, 366-370.
- Espejel I. (1987). A phytogeographical analisis of coastal vegetation in the Yucatan. Journal of Biogeography, 14, 499-519.
- Gentry H.S. (1982). Agaves of Continental North América. University of Arizona Press, Tucson
- Gentry B., M.J. Briantais and N.R. Baker (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochemical Acta, 990, 87-92.
- García-Mendoza, A., M.P. Colunga-García, and J.R. Bye (1993). "Los usos de Agave angustifolia Haw., ancestro silvestre del henequén en su área de distribución geográfica" en: *Memorias de la conferencia Nacional sobre el Henequén y la Zona Henequenera de Yucatán*, Peniche P. y B.F. Santamaría (ed). Gobierno del Estado de Yucatán, CONACYT, Universidad Autonoma de Yucatán, Sostenibilidad Maya, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias 25-28 de octubre. 1992. Mérida Yucatán
- Granados.D. (1993). Los agaves de México. Universidad Autónoma de Chapingo, Chapingo.
- Hodgson, W., G. Nabhan and L. Ecker (1989). *Conserving rediscovered Agave cultivars*. Agave, 3, 9-11.

Hunt, R. (1990). Basic growth analysis. London Unwin Hyman. Boston.

- Jones, H.G (1992). *Plants and microclimate. A quantitative approach to environmental plant physiology.* Second edit. Cambridge University. Great Britain.
- Jones, M.B (1985). "Plant microclimate", in Techniques in bioproductivity and photosynthesis, Coombs J, D.O. Hall, S.P. Long and J.M.O. Scurlock. (eds). Oxford: Pergamon Press. pp. 26-40.
- Lambers, H. and H. Pooter (1992). Inherent variation in growth rate beteew higher plants: a search for physiological causes and ecological consequences. Advances of Ecological Research, 23, 187-261.
- Lu, Q., N. Qui, Q. Lu, B. Wang and T. Kuang (2003). *PSII* photochemestry, thermal energy dissipation, and the xanthophyll cycle in Kalanchoe daigremontiana exposed to a combination of water stress and high light. Physiologia Plantarum, 118, 173-182.
- Lüttge U., M. Fetene, M. Liebig, U. Rascher and E. Becks (2001). Ecophysiology of nuche occupation by twoo giant rossete plants Lobelia gibberoa Hemand Solanecio gigas (Vatke) C. Jeffrey, in an Afromontane Forest Vally. American Botany, 88, 267-278.
- Mahadev, B.C. and P.S. Nobel (1987). High-Temperature Sensitivity and its acclimation for photosynthetic electron transport reactions of desert succulents. Plant Physiology., 84, 1063-1067.
- Mandujano, M del C., C. Montaña, I. Mendez and J. Golubov (1998). The relative contribution of sexual reproduction and clonal propagation in Opuntia rastrera from two habitats in the Chihuaha desert. Journal of Ecology, 89, 911-921.
- Nobel, P.S. (1976). Water relation and photosynthesis of a desert CAM plant, Agave deserti. Plant Physiology., 58, 576-582.
- Nobel, P.S. (1977). *Water relation of flowering of Agave deserti*. Botanical Gazette, 138, 1-6.
- Nobel, P.S. (1984). Productivity of Agave deserti: measurement by dry weight and monthly prediction using physiological responses to environmental parameters. Oecologia, 64,1-7.
- Nobel, P.S. (1985a). PAR, water, and temperature limitations on the productivity of cultivated Agave fourcroydes (Henequen). Journal. Annual Ecology, 22, 157-173.
- Nobel, P.S. (1985b). Water relations and carbon dioxide uptake of Agave deserti special adaptation to desert climates. Desert Plant, 7, 51-56
- Nobel, P.S. (1986). Environmental productivity indices for a Chihuahan desert plant CAM, Agave lechuguilla. Ecology, 67(1), 1-11.
- Nobel, P.S. (1987). Water relations and plant size aspects of flowering for Agave deserti. Botanical Gazette, 1, 79-84.
- Nobel, P.S. 1988. Environmental Biology of Agaves and Cacti. Cambridge University Press, Cambridge.

- Nobel, P.S. (1990). Environmental influences on CO2 Uptake by Agaves CAM plants with high productivities. Economy Botany, 44(4), 488-502.
- Nobel, P.S. (1992). Annual variations in flowering percentage, seeding establishment, and ramet production for desert perennial. International Journal Plant Science, 1, 102-107.
- Nobel, P.S. and Hartsock (1986). *Temperature water and PAR influence* on predicted and measured `productivity of Agave deserti at various elevations. Oecologia, 68,181-185.
- Nobel, P.S. and E. Quero (1986). *Environmental productivity indices for* a Chihuahua desert plant, Agave lechuguilla. Ecology, 67, 1-11.
- Osmond CB, W.W. Adams III and S.D. Smith (1994) "Crassulacean acid metabolism", in *Plant Physiological Ecology*, Pearcy R.W, J.R Ehleringer, H.A Mooney and P.W. Rundel (eds). Field Methods and Instrumentation. Chapman y Hall, London.
- Orellana, R., L.Villers, V.Franco and L. Ojeda (1985). "Algunos aspectos ecológicos de los Agaves de la Península de Yucatán", en *Biología y aprovechamiento integral del Henequén y otros Agaves,* Cruz, C., L. del Castillo, M. Robert y R.N. Ondarza (eds). *Centro de Investig*ación *a*, Científica de Yucatán, A.C. Mérida, Yucatán, México. 39-54.
- Orellana R (1999) "Evaluación climática", en: *Atlas de procesos territoriales de Yucatán*, Garcia A, J. Cordova (eds). Facultad de arquitectura, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Mexico.
- Pieters, A.J. W. Tezara and A. Herrera (2003). Operation of the xanthophyll cycle and degradation of D1 protein in the inducible CAM plant, Talinum triangulare, under water deficit. American Botany, 92, 393-399.
- Pfitsch, W.A. and A. Smith (1988). Growth and photosynthesis of Aechmea magdalenae, a terrestrial CAM plant in a tropical moist forest, Panama. Journal Tropical Ecology, 4, 199-207.
- Rascher, U., M. Liebig and U. Lüttge (2000). Evaluation of instant lightresponse curves of chlorophyll fluorescence parameters obtained with a portable chlorophyll fluorometer on site in the field. Plant Cell Environment, 23, 1397-1405.
- Raphael, D.O. y P.S. Nobel (1986). Growth and survivorship of ramets and seedlings of Agave deserti: Influences of Parent-Ramet connections. Botanical Gazette, 1, 78-83.
- Ravetta, D.A. and S.P. McLaughlin (1996). Ecophysiological studies in Hesperaloe funifera (Agavaceae): a potential new CAM crop. Seasonal patterns of photosynthesis. Journal Arid Environmental, 33, 211-223.

- Skillman J.B. and K. Winter (1997). *High photosynthetic capacity in a* shade-tolerant crassulacean acid metabolism plant. Plant Physiology, 113, 441-450
- Sarek, S.T.; B. Dirscoll, C. Shohet and S. Priebe (1996). Bulbil production in Agavr (Agavaceae) and related genera. The southwestern naturalist. Notes.
- Sarek, S and G. Holmesley (1996). Physiological activity in persistent bulbils of Agave vilmoriana (Agavaceae). American Journal of Botany, 83(7), 903-906.
- Tissue, D. and P.S. Nobel (1990). Carbon relation of flowering in a semelparus clonal desert perennial. Ecology, 71, 273-281.
- Van Klooten, O., and J.F.H. Snel (1990). The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. Photosynthesis Research, 25, 147-150.
- Vince-Prue, D. (1983). "Photomorphogenesis and flowering", in *Photomorphogenesis. Encyclopedia of plant physiology*, Shropshire, W and H. Mohr (ed). Springer, Berlin. pp 457-490.
- Zotz, G.(2000). Size-related intraspecific variability in physiological traits of vascular epiphytes and its importance for plant physiological ecology. Perspectives in Plant Ecology. Evolution and Systematics, 3, 19-28.
- Zotz, G., P. Reichling and F. Valladares (2002). A simulation study on importance os size-related change in leaf morphology and physiology of carbon gain in an epiphytic Bromeliad. Annual of Botany, 90, 437-443.

3.6 ANEXOS

	SS	Grados de libertad	MS	F	Р
Intercepto	0.71	1	0.71	601.91	0.001
Sitio	0.02	1	0.02	18.87	0.001
Luz	0.02	1	0.02	19.34	0.001
Sitio*Luz	0.00	1	0.00	3.14	0.07
Estación	0.54	2	0.77	105.19	0.001
Estación*sitio	0.03	2	0.00	6.72	0.001
Estación*Luz	0.03	2	0.00	6.54	0.001
Estación*sitio*Luz	0.01	2	0.00	0.25	0.9

Tabla 3.1. Análisis de varianza de mediciones repetidas de dos vías para el análisis de la tasa de crecimiento relativo. Los factores son: el sitio y luz. Las medidas repetidas son las estaciones.

Tabla 3.2. Análisis de varianza de mediciones repetidas de dos vías para el análisis de la producción relativa de hojas. Los factores son: el sitio y luz. Las medidas repetidas son las estaciones.

	SS	Grados de libertad	MS	F	Р
Intercepto	3.69	1	3.66	1839.15	0.001
Sitio	0.499	1	0.49	24.4	0.001
Luz	0.001	1	0.001	0.3	0.5
Sitio*Luz	0.001	1	0.0001	0.7	0.3
Estación	2.75	2	0.39	244.3	0.001
Estación*sitio	0.64	2	0.009	5.7	0.001
Estación*Luz	0.42	2	0.005	3.8	0.001
Estación*sitio*Luz	0.30	2	0.007	3.2	0.003

 Tabla 3.3. Análisis de varianza de tres vías para el análisis de la acidez titulable. Los factores son: sitio luz y estación

Efecto	SS	Grados	MS	F	Р
		de			
		libertad			
Intercepto	2239067	1	2239067	216.01	0.001
Sito	59190	1	59190	2.710	0.001
Luz	193265	1	193265	18.64	0.001
Estación	189141.1	1	189141.1	262776	0.001
Sitio*Luz	491.76	2	2458	2.3121	0.005
Sitio*estación	520	2	260	0.025	0.005
Luz*Estación	13545	2	13545	0.888	0.035
Sirio*Luz*Estación	120617	2	65308	6.300	0.006

producción de semillas. Los factores son: sitio y luz						
	SS	Grados de libertad	MS	F	Р	
Intercepto	54345.53	1	54345.53	79.234	0.001	
Sitio	13664.54	1	13664.54	19.922	0.001	
Luz	34.44	1	34.44	0.050	0.824	
Sitio*Luz	277.26	1	277.26	0.040	0.531	
Error	14403.45	21	685.88			

 Tabla 3.4. Análisis de varianza de dos vías para le análisis de la producción de semillas. Los factores son: sitio y luz

Tabla 3.5. Análisis de varianza de dos vías para le análisis de la producción de bulbillos. Los factores son: sitio y luz

SS		Grados de	MS F		Р
		libertau			
Intercepto	3159.320	1	3159.320	107.070	0.001
Sitio	109.514	1	109.514	3.711	0.063
Luz	89.633	1	89.633	3.037	0.091
Sitio*Luz	19.850	7	19.850	0.672	0.418
Error	914.727	31	29.507		

La variación en la expresión del metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) refleja tanto la diversidad (la incidencia taxonómica de CAM) como la variedad de hábitats que ocupan las especies. Este tipo de fotosíntesis ha sido reportado en especies litofitas, terrestres, epífitas y acuáticas de 328 géneros, en 33 familias (Holtum & Winter, 1999; Lüttge, 2004). Aunque se ha aceptado que CAM representa una extraordinaria adaptación ecológica de la fotosíntesis (Kluge et al 2001, Lüttge et al 2004: Winter et al 2008) no es claro cuáles son las implicaciones y ventajas de la extraordinaria plasticidad de la expresión de CAM, tanto en condiciones naturales como en controladas. En este trabajo, se uso la determinación de la composición isotópica de carbono $(\delta^{13}C)$, junto con mediciones de acidez tisular en especies CAM, para generar información sobre los cambios en la proporción de CO2 fijado durante la noche y durante el día y por lo tanto pudimos determinar la plasticidad v flexibilidad de la actividad CAM (Winter & Holtum, 2002: Cushman & Borland, 2002; Kluge et al., 1991), donde algunas especies, principalmente Agave angustifolia y Acanthocereus tetragonus, se presentan en varias localidades con diferencias en la asimilación de carbono y el crecimiento.

En plantas CAM, los valores de δ^{13} C se correlacionan linealmente con la proporción de CO₂ fijado durante el día y la noche (Winter & Holtum, 2002). Entre más negativo son los valores de δ^{13} C menor es la proporción de CO₂ fijado en la noche. Además diversas especies pueden presentar diferentes grados de de actividad CAM y por lo tanto la composición isotópica varía entre especies (Winter et al., 2005). En el presente estudio las especies CAM presentaron valores de δ^{13} C típicas de especies CAM fuertes (valores mayores de -20 ‰) a lo largo del gradiente de precipitación, sin embargo, se encontró que el porcentaje de la asimilación nocturna de carbono se incrementa en los sitios más secos, es decir, se disminuye la asimilación del CO₂ durante el día. La fijación nocturna está asociada con bajas tasas de transpiración, por lo que un incremento en los valores de δ^{13} C indica un incremento en la eficiencia de uso de agua (Ehleringer and Cooper 1988; Mooney et al. 1989; Hietz et al., 1999; Goode et al. 2010). Varias especies CAM tienden a reducir su conductancia estomática y así reducir su tasa de transpiración cuando se encuentran creciendo en condiciones de escasa disponibilidad de agua (Nobel, 1985; 1991; Andrade & Nobel, 1996; Cervera et al., 2007), lo que incrementa tanto su eficiencia de uso del agua, como los valores de δ^{13} C.

La ganancia de carbono para todas las especies CAM, medida como la acumulación de ácidos orgánicos, fue mayor durante la estación de lluvias y menor durante la estación de sequía. En *A. angustifolia* la tasa de transporte de electrones se redujo un 30% durante la sequía comparado con la estación de lluvias, y la ganancia de carbono en ese mismo periodo fue menor en el sito más seco (matorral de duna costera). Para evitar el exceso de transpiración durante la temporada de sequía, varias especies CAM tienden a retrasar la apertura estomática durante la noche, reduciendo la acumulación de ácido málico (Nobel 1985, b; Nobel 1988; Nobel *et al.* 1991; Andrade & Nobel, 1997; Lu *et al.* 2003; Cervantes et al. 2005; Cervera et al. 2007) así como la ganancia de carbono utilizada para el crecimiento. En varias especies CAM las tasas de asimilación nocturna de CO₂ están asociados con un mayor porcentaje de plantas que florecen (Nobel, 1988; Tissue & Nobel, 1990).

El incremento en la actividad CAM cuando la disponibilidad de agua es limitada puede afectar al crecimiento y a la reproducción de las especies CAM, debido al alto costo energético de convertir el CO₂ en ácido málico y almacenarlo en la vacuola para su posterior desacidificación. En el presente estudio el crecimiento relativo de *Agave angustifolia* fue nulo durante la sequía y la mayor producción de semillas y bulbillos se presentó en los sitios con mayor disponibilidad de agua (selva baja caducifolia). Lo que sugiere que el agua es uno de los principales factores en la productividad de *A. angustifolia* al igual que en otras plantas CAM (Nobel & Quero, 1986), a pesar de que pueden almacenar cantidades considerables de agua en sus tejidos (Gentry, 1982; Nobel, 1988; Smtih *et al.*, 1987).

Por otro lado, las especies CAM fueron capaces de incrementar su acidificación (ΔH^{+}) a altas intensidades lumínicas cuando la disponibilidad de agua incrementa, lo que refleia una interacción la exposición a la luz y la disponibilidad de agua. Por ejemplo, en el sitio con mayor disponibilidad de aqua las plantas CAM que se encontraron creciendo en los sitos más expuestos (al 80% del flujo de fotones para la fotosíntesis. FFF) presentaron una mayor ΔH^{\dagger} comparado con las plantas más sombreadas (al 20% del FFF). Estos resultados se invierten en los sitos más secos, en donde las plantas expuestas presentaron una menor ΔH^{+} que las plantas sombreadas. En algunas especies CAM un incremento en la capacidad fotosintética como respuesta al incremento en la cantidad de luz sin un incremento en el suministro de ácido málico pude predisponer la fotoinhibición de dichas especies (Skillman & Winter, 1997). En el sitio más seco las plantas de A. angustifolia que se encontraban creciendo al 80% del FFF presentaron una disminución en la eficiencia cuántica del fotosistema II (PPSII), lo que sugiere que las plantas estuvieron expuestas a un exceso de energía y presentaron fotoinhibición. La recuperación del **PSII** al atardecer durante la temporada de lluvias indica una fotoinhibición reversible por procesos de fotoprotección (Deming-Adams & Adams, 1996). En cambio, debido a las temperaturas elevadas y al estrés hídrico durante la temporada de seguía las plantas se encontraron fotoinhibidas desde al amanecer en ambos sitios (duna y selva baja) como ocurre en otras plantas que habitan en sitios secos (Adams et al., 1987; Lu et al., 2003). Esta fotoinhibición también puede observarse por la disminución en el incremento en la reducción no fotoquímica (NPQ) durante la temporada de sequía El incremento del NPQ puede ser un mecanismo para ayudar a disipar el exceso de energía disminuyendo la tasa de transporte de electrones (ETR) necesarios para la producción de ATP y NADPH (Mahave & Nobel, 1987)

El valor de importancia así como la proporción de especies CAM en el presente estudio incrementó desde el matorral de duna costera (sitio más seco) a las selvas baja caducifolia (sitio con mayor disponibilidad de agua) sugiriendo un balance más favorable de luz y disponibilidad de agua para el desempeño de las plantas CAM en las comunidades de selva baja caducifolia. Agave angustifolia y Acanthocereus tetragonus fueron las especies con la mayor variabilidad en los valores de δ^{13} C v A. tetragonus fue la única especie que se encontró creciendo en los tres sitios de estudio a lo largo del gradiente de precipitación. Por otro lado, A. angustifolia estuvo entre las 15 especies con los mayores valores de importancia en las comunidades donde se encontró. Estos datos sugieren que algunas especies CAM son capaces de responder a cambios en el ambiente y ser capaces de habitar mas ambientes comparado con otras especies. Estos resultados concuerdan con lo encontrado con especies CAM de Madagascar, donde las especies con la mayor plasticidad en la actividad CAM fueron las especies capaces de ocupar una gran variedad de ambientes comparada con las especies CAM con la menor plasticidad (Kluge et al., 1991; Kluge et al., 2001). Se ha propuesto de que la flexibilidad de CAM provee una ventaja para la adquisición de nichos con diferentes ambientales (Luttge, 2004; Herrera, 2009). Agave angustifolia es un buen modelo para corroborar dicha propuesta debido a que es el agave con la distribución más amplia y ocupa una gran variedad de ambientes, creciendo en varios tipos de vegetación, desde duna costera hasta bosques de pino-encino (Gentry, 1982; Orellana et al., 1985).

La plasticidad y flexibilidad de la actividad CAM en *A. angustifolia* junto con la tolerancia que presenta esta especies a la sequía y a la alta radiación y temperatura puede explicar la gran cantidad de ambientes que ocupa y por lo tanto su distribución tan amplia. Se necesitan estudios con diferentes especies CAM creciendo en una mayor diversidad de ambientes para confirmar si dicha plasticidad en la actividad CAM además de ser una ventaja ecológica como mecanismo de supervivencia también es un factor importante en la distribución y frecuencia de especies CAM. Estos estudios podrían ayudar a predecir cuales serían las especies CAM más susceptibles a perturbación, ya que especies con la menor plasticidad fotosintética serían las especies restringidas a determinados ambientes.

REFERENCIAS.

Adams WW III, Smith SD, Osmond CB. 1987. Photoinhibition of the CAM succulent Opuntia basilaris growing in the Death Valley: evidence from 77K fluorescence and quantum yield. Oecologia 71, 221-228.

Andrade JL. and P.S. Nobel (1996). *Habitat, CO2 uoptake and growth* fort the CAM epiphytic cactus Epiphyllum phyllanthus in a Panamian tropical forest. Journal of Tropical Ecology,12, 291-306.

Andrade JL, Nobel PS (1997)Microhabitats and water relations of epiphytic cacti and ferns in a lowland neotropical forest. Biotropica 29:261-270

Barker, D.H., B.A. Logan, W.W. Adams III and B. Demming-Adams (1998). Photochemestry ans xanthophylls cycle-dependet energy dissipation in differently oriented cladodes of Opuntia stricta during the winter. Australian Journal of Plant Physiology, 25, 05-104.

Cervantes SE, Graham EA, Andrade JL (2005) Light microhabitats, growth and photosynthesis of an epiphytic bromeliad in a tropical dry forest. Plant Ecology 179:107-118

Cervera J.C., J.L. Andrade, E.A. Graham, R. Durán, P.C. Jackson and J.L. Simá (2007). *Photosynthesis and optimal light microhabitats for rare cactus, Mammillaria gaumeri, in two tropical ecosystems*. Biotropica 39, 620-627

Cushman J.B and A.M Borland (2002). Induction of Crassulacean acid metabolism by water limitation. Plant Cell Environment, 25, 295-310

Demming-Admas, B. and W.W. Adams III (1996). The role of xanthophylls cocle carotenoids in protection of photosynthesis. Trends in Plant Science, 1, 21-26

Ehleringer JR, Cooper TA (1988) Correlations between carbon isotope ratio and microhabitat in desert plants. Oecologia 76:562-566

Gentry H.S. (1982). Agaves of Continental North América. University of Arizona Press, Tucson

Goode LK, Erhardt EB, Santiago LS, Allen MF (2010) $\delta^{3}C$ soluble sugars in Tillandsia epiphytes vary in response to shifts in habitat. Oecologia, in press

Herrera A (2009). Crassulacean acid metabolism and fitness under water deficit stress: if not for carbon gain, what is facultative CAM good for? Annual of Botany, 103, 645-653

Hietz P, Wanek W, Popp M (1999) Stable isotopic composition of carbon and nitrogen and nitrogen content in vascular epiphytes along an altitudinal transect. Plant Cell Environment 22:1435-1443

Holtum J.A.M and Winter K (1999). Degrees of crassulacean acid metabolism in tropical epiphytic and lithophytic ferns. Plant Physiology., 26, 749-757

- Kluge, M., J. Brulfert, D. Ravelomanana, J. Lipp and H. Zeigler (1991). Crassulacean acid metabolism in Kalanchoë species collected in various climatic zones of Madagascar: a survey by δ¹³C analysis. Oecologia, 88, 407-414.
- Kluge, M., B. Razanoelisoa and J. Brulfert (2001) *Implications of* genotypic diversity and phenotypic plasticity in the ecophysiological success of CAM plants, examined by studies on vegetation of Madagascar. Plant Biology, 3, 214-222
- Larcher W. (1995). Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups. New York: Springer-Verlag.
- Lu, Q., N. Qui, Q. Lu, B. Wang and T. Kuang (2003). *PSII* photochemestry, thermal energy dissipation, and the xanthophyll cycle in Kalanchoe daigremontiana exposed to a combination of water stress and high light. Physiologia Plantarum, 118, 173-182.
- Luttge, U (2004). *Ecophysilogy of crassulacean acid metabolism (CAM)*. Annual of Botany, 93, 629-652
- Mahadev, B.C. and P.S. Nobel (1987). *High-Temperature Sensitivity and its acclimation for photosynthetic electron transport reactions of desert succulents.* Plant Physiology, 84, 1063-1067.
- Mooney HA, Bullock SH, Ehleringer JR (1989) Carbon sotope ratios of a tropical dry forest in Mexico. Function Ecology 3:137-14
- Nobel PS (1991) Tansley Review No 32. Achievable productivities of certain CAM plants: basis for high values compared with C₃ and C₄ plants. New Phytology 119:183-205
- Nobel, P.S. (1990). Environmental influences on CO2 Uptake by Agaves CAM plants with high productivities. Economy Botany, 44(4), 488-502.
- Nobel, P.S. (1985). *PAR, water, and temperature limitations on the productivity of cultivated Agave fourcroydes (Henequen).* Journal Ameircan Ecology, 22, 157-173.
- Nobel, P.S. and E. Quero (1986). Environmental productivity indices for a Chihuahua desert plant, Agave lechuguilla. Ecology, 67, 1-11.
- Nobel, P.S. (1988). *Environmental Biology of Agaves and Cacti*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Nobel PS, Loik ME, Meyer RW (1991) Microhabitat and diel tissue acidity changes for two sympatric cactus species differing in growth habitat. Journal of Ecology 79:167-182
- Orellana, R., L.Villers, V.Franco and L. Ojeda (1985). "Algunos aspectos ecológicos de los Agaves de la Península de Yucatán", en *Biología y aprovechamiento integral del Henequén y otros Agaves,* Cruz, C., L. del Castillo, M. Robert y R.N. Ondarza (eds). *Centro de Investig*ación a, Científica de Yucatán, A.C. Mérida, Yucatán, México. 39-54.

- Pfitsch, W.A. and A. Smith (1988). Growth and photosynthesis of Aechmea magdalenae, a terrestrial CAM plant in a tropical moist forest, Panama. Journal of Tropical Ecology., 4, 199-207.
- Ravetta, D.A. and S.P. McLaughlin (1996). Ecophysiological studies in Hesperaloe funifera (Agavaceae): a potential new CAM crop. Seasonal patterns of photosynthesis. Journal of Arid Environment, 33, 211-223.
- Skillman J.B. and K. Winter (1997). *High photosynthetic capacity in a shade-tolerant crassulacean acid metabolism plant*. Plant Physiology, 113, 441-450
- Smith, J.A.C., Schulte, P.J. y Nobel, P.S (1987). Water flow and water storage in Agave deserti: osmotic implications of crassulacean acid metabolism. Plant Cell and Environment, 10,639-648.
- Tissue, D. and P.S. Nobel (1990). Carbon relation of flowering in a semelparus clonal desert perennial. Ecology, 71, 273-281.
- Winter K and J.A.M Holtum (2002). *How closely do the δ*⁴³*C values of crassulacean acid metabolism plants reflect the proportion of CO*₂ *fixed during day and night*? Plant Physiology, 129, 1843-1851
- Winter K, Aranda J, Holtum JAM (2005) Carbon isotope composition and water-use efficiency in plants with crassulacean acid metabolism. Functional Plant Biology 32:381-388
- Winter K, Garcia M, Holtum JAM (2008) On the nature of facultative and constitutive CAM: environmental and developmental control of CAM expression during early growth of Clusia, Kalanchoë, and Opuntia. Journal of Experimental Botany, 59:1829-1840

- La ganancia de carbono para las plantas CAM a lo largo del gradiente de precipitación fue mayor durante la estación de lluvias y menor en la estación de sequía.
- En el sitio más seco, la mayor ganancia de carbono lo presentaron las plantas de los microambientes sombreados, mientras que en los sitios más húmedos, las plantas de los microambientes más expuestos fueron las que presentaron las mayores ganancias de carbono, lo que destaca un cambio en la interacción entre la luz y la disponibilidad de agua a lo largo del gradiente de precipitación, en la cual se observa un incremento en la demanda por luz cuando la disponibilidad de agua incrementa
- Los valores de δ¹³C incrementan en los sitios más secos indicando cierre estomático durante la fase II y IV del ciclo de CAM y una menor contribución de RUBISCO para la asimilación de CO₂.
- Los valores de importancia mostraron un cambio en las especies CAM presentes en los sitios sugiriendo que el balance en la disponibilidad de luz y agua a lo largo del gradiente de aridez determina el éxito relativo de las especies CAM en la comunidad.
- Acanthocereus tetragonus y Agave angustifolia fueron las únicas especies que se encontraron tanto en selva baja como en duna costera y fueron las especies que presentaron la mayor variabilidad en los valores de δ^{13} C lo que sugiere que son capaces de responder a cambios en el ambiente y por lo tanto ser capaces de estar en más hábitats que las otras especies estudiadas.
- La tasa de crecimiento relativo de individuos adultos de *A. angustifolia* es consistente con el patrón estacional de asimilación de carbono: máxima en la estación lluviosa y nula durante la estación seca. Además fue mayor en individuos creciendo en la selva baja caducifolia, donde la precipitación media anual es mayor que en el matorral de duna costera.
- Los microambientes óptimos de luz para el crecimiento de A. angustifolia son los sitios más expuestos durante la temporada donde se encuentra disponible el agua. Sin embargo, los individuos expuestos creciendo en el sitio con menor disponibilidad de agua en el suelo (duna costera) presentaron fotoinhibición.

- La producción de semillas y bulbillos de A. angustifolia fue consistente con la tasa de crecimiento relativa y la asimilación de carbono: fue mayor en los sitios con mayor disponibilidad de agua (selva baja caducifolia).
- La producción de semillas y bulbillos (y seguramente rametos) en *A. angustifolia* refleja la habilidad de la planta para acumular carbono y así crecer en un particular año y utilizar el carbono acumulado en la producción de la inflorescencia.
- La plasticidad fotosintética de A. angustifolia junto con su tolerancia al estrés hídrico puede ser una explicación de la gran variedad de ambientes que puede ocupar dicha especie en comparación con otros agaves.

Perspectivas

- Para saber si la plasticidad de la actividad CAM no es solo una ventaja ecológica como mecanismo de supervivencia en ambientes con escasa disponibilidad de agua, sino también un importante factor en la distribución y frecuencia de especies CAM, es necesario realizar más estudios con especies creciendo en una mayor diversidad de ambientes.
- Si se confirma que la plasticidad de la actividad CAM es importante en la ocupación de diferentes nichos, las especies con la menor plasticidad en la actividad fotosintética serian las especies más susceptibles a la perturbación de sus hábitats.
- El conocer cuales serían las especies más susceptibles a la perturbación ayudaría a elaborar mejores planes de manejo para su conservación.
- El conocer la fisiología de las especies CAM puede ayudar a comprender los cambios que ocurrirían en los diferentes escenarios del cambio climático local.