

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA



Determinación del Metabolismo Fotosintético de *Dasylipton cedrosanum* Trel.,
Mediante Metodologías Bioquímicas y Variables de Intercambio Gaseoso

Por:

FLORIBERTO CERVANTES ORTIZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Saltillo, Coahuila, México

Mayo, 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Determinación del Metabolismo Fotosintético de *Dasyliion cedrosanum* Trel.,
Mediante Metodologías Bioquímicas y Variables de Intercambio Gaseoso

Por:

FLORIBERTO CERVANTES ORTIZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Aprobada

Dr. Adalberto Benavides Mendoza
Asesor principal

Dr. Susana González Morales
Coasesor

Dr. Antonio Juárez Maldonado
Coasesor

Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía

Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Mayo, 2015

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por haber permitido terminar esta gran etapa en mi vida con muchas dificultades y tropiezos que día a día fui superando, por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por brindarme un mundo de cosas nuevas en mi vida; conocer nuevos amigos, lugares, conocer nuevas culturas y tradiciones, entre muchas cosas más; muchas gracias Diosito por este gran logro en el me siento orgulloso porque nunca me abandonaste y en días difíciles siempre me guiabas para salir adelante demostrándome tu gran fidelidad, tu inmenso amor.

A **la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, por haberme dado la gran oportunidad de aprender muchas cosas nuevas dentro y fuera de sus instalaciones, las cuales me recibieron con mucho cariño y respeto para realizar mis estudios profesionales y cumplir mis objetivos.

A **Dr. Adalberto Benavides Mendoza**, por su apoyo, atención, confianza y por darme la oportunidad de realizar este trabajo de investigación para la culminación de mi carrera profesional.

A **la MC. Erika Nohemí Rivas Martínez**, por darme la confianza y creer en mí para la ejecución de este proyecto, del cual me siento orgulloso; gracias por su dedicación, disposición, asesoría, paciencia y sobre todo por su conocimiento brindados durante la investigación.

A **el cuerpo académico de Departamento de Horticultura**, por todos sus conocimientos que forma parte de mi vida profesional, por sus consejos y lecciones aprendidas de ustedes en su momento que influyeron en este gran logro.

A **Ing. Enrique López Bernal**, por haber formar parte en mi decisión de realizar mis estudios en la UAAAN, por sus buenos consejos y conocimientos que me brindo lo cual fue motivo para hacer una carrera profesional.

A mis padres, **David Cervantes Jiménez y Juana Ortiz Gómez**, por su apoyo incondicional, sus consejos, creer en mí y darme la confianza para qué día con día siguiera adelante y concluir mi carrera.

A mis hermanos, **Bertín, Inocencia, Jesús Misael, María Azucena, David, Alejandro, Eleazar y Jorge Luis**, por su apoyo incondicional, por sus consejos y por siempre animándome para concluir mi carrera con éxito.

A mi esposa, **Xóchitl Gpe. Cervantes Sierra**, por formar parte de mi vida, por su apoyo, paciencia, consejos y alegría que me brindo durante mi vida de estudiante, gracias mi amor por todo lo que me has brindado. TE AMO.

A mis abuelos paternos, **Juan Cervantes Cruz y Amparo Jiménez Cruz**, por su apoyo moral, sus buenos consejos los cuales me impulsaron para seguir adelante y nunca darme por vencido.

A mis amigos y colegas, **Paola Leija, Mónica Lucas, Iván Bautista, Omar Cordero, Álvaro Romero, Roberto Magaña, Omar Ortiz, Salvador Cruz, Jesús Quiñones, Luis Ángel Palacios, Armando Jiménez**, y a toda la generación CXVI y CXVII de la carrera Ing. Agrónomo en Horticultura.

A mis grandes amigos, **Leonel García, Raudel Nicio, Mirna Alberto, Bernardo Tapia, Fernando Martel**, gracias por su amistad y por los grande momentos que pasamos juntos y por apoyarnos siempre.

DEDICATORIA

A mis padres: **David Cervantes Jiménez y Juana Ortiz Gómez**

Con todo cariño y amor para las personas que me dieron la vida, realmente estas palabras no describen todo lo que son para mí, pero a través de ellas quiero decirles que este logro es de ustedes, porque fueron el pilar para conseguirlo, a pesar de los momentos difíciles que hemos pasado siempre han estado ahí al frente apoyándonos y brindándonos ese amor, comprensión, cariño y confianza que nos caracteriza como familia para seguir adelante, muchas gracias por todo porque nunca me cansaré de pagarles todo lo que me han dado. Dios me ha dado los mejores padres.

A mis hermanos: **Bertín, Inocencia, Jesús Misael, María Angélica (+), María azucena, David, Alejandro, Eleazar y Jorge Luis.**

Muchas gracias hermanitos porque ustedes han sido el motor para salir adelante, a pesar de todo lo que hemos vivido somos una gran familia muy unida, eso ni quien lo dude y por ustedes he logrado un objetivo más y vamos por muchos sueños más.

A mi esposa: **Xóchitl Guadalupe Cervantes Sierra** y a mi hijo **Rodrigo Neftalí Cervantes Cervantes.**

Con mucho cariño y amor para ellos porque han entrado a formar parte de mi vida y el motivo para seguir adelante luchando cumpliendo muchos sueños y vivir nuevas experiencias, juntos como familia y le doy gracias a Dios por ponerlos en mi camino.

A mis abuelos paternos: **Juan Cervantes Cruz y Amparo Jiménez Cruz.**

Con todo cariño para ustedes por que han formado gran parte en mi vida, sus consejos siempre los tengo presente porque es un herramienta secreta que me impulsa día con día para seguir adelante.

A mis abuelos maternos: **Florencio Ortiz Cruz (+) y Agustina Gómez Chávez (+).**

Con mucho cariño para ustedes que a pesar que ya no están conmigo siempre los llevo presente en mi corazón.

A mis tíos: **Aarón, Raymundo, Gustavo, Bartolo, Judith, Elena, Catalina, Elvia, Margarita, Isaura, Josefina, Karina, Paula,** gracias por sus consejos y experiencias que me compartieron y ser parte de la familia.

A mis primos: **Fredy, Miguel Ángel, Jorge Antonio, Pedro, Guadalupe, Emanuel, Eloina, Jose, Tali, Male, Yami, Yoni, Lorena, Rosa, Mundi,** gracias por su apoyo y por ser parte de la mi familia.

A mis sobrinos: **Joanna, Brandon, Cesar, Santiago, Giselle, Meli, Bertín jr.**

INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	III
DEDICATORIA.....	V
RESUMEN.....	X
I. INTRODUCCION	1
1.1 Justificación.....	2
1.2 Objetivo general.....	2
1.3 Objetivos específicos.....	2
1.4 Hipótesis.....	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 <i>Dasyliirion cedrosanum</i>	3
2.2 Clasificación botánica.....	3
2.3 Descripción Morfología.....	3
2.4 Distribución geográfica.....	4
2.5 Requerimientos edáficos.....	5
2.6 Usos e importancia económica.....	5
2.7 Fotosíntesis.....	6
2.7.1 La fase lumínica.....	6
2.7.2 La fase oscura o bioquímica.....	7
2.8 Tipos de metabolismos fotosintéticos.....	8
2.9 Metabolismo fotosintético C3.....	8
2.9.1 Ciclo de Calvin en plantas C3.....	9
2.10 Metabolismo fotosintético C4.....	10
2.10.1 Reacciones del Metabolismo C4.....	11
2.11 Metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM).....	12
2.11.1 Vía Fotosintética del Metabolismo Ácido de las Crasuláceas (CAM).....	13
2.12 Transición C3-C4 en la evolución de la fotosíntesis C4.....	14
2.13 Transición de metabolismo fotosintético C4 a metabolismo tipo CAM.....	15
2.14 Características diferenciales entre los metabolismos fotosintéticos.....	15
2.15 Densidad Estomática.....	19
2.16 Conductancia y Resistencia estomática.....	21
2.16.1 Conductancia estomática.....	21
2.16.2 Resistencia estomática.....	23

2.17 Acumulación de Ácidos Orgánicos.	26
2.18 Acumulación de Azúcares totales.	27
III. MATERIALES Y METODOS.....	30
3.1 Ubicación del experimento.....	30
3.2 Preparación de la planta.	30
3.3 Riegos.....	30
3.4 Muestreo.....	31
3.5 Conductancia y Resistencia Estomática.....	31
3.6 Acidez titulable.	31
3.7 Cuantificación de azúcares totales.....	32
3.8 Grados Brix.....	32
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
4.1 Conductancia Estomática.	33
4.2 Resistencia Estomática.	35
4.3 Acidez Titulable.....	37
4.4 Acumulación de azúcares totales.....	39
4.5 Grados Brix.....	41
V. CONCLUSIÓN.....	43
VI. PERSPECTIVAS.....	43
VII. LITERATURA CITADA.....	44

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características enzimáticas, estructurales y tasa máxima de fijación de CO ₂ en plantas con tres metabolismos fotosintéticos diferentes.	16
Cuadro 2. Comparación entre plantas C ₃ , C ₄ Y CAM.	17
Cuadro 3. Principales características y Enzimas que participan en los diferentes tipos de metabolismos fotosintéticos.....	18
Cuadro 4. Número de estomas de algunas plantas C ₃ , C ₄ y CAM.....	20
Cuadro 5. Comparación entre la resistencia y conductancia estomática.	25

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución geográfica del género <i>Dasyilirion</i>	4
Figura 2. Fases de la Fotosíntesis	6
Figura 3. Fase Oscura y Fase Luminosa de la Fotosíntesis.....	7
Figura 4. . Fase Oscura y Fase Luminosa de la Fotosíntesis.....	9
Figura 5. Representación del Ciclo de Calvin en una planta C3	10
Figura 6. Vía fotosintética de plantas C4.....	11
Figura 7. Metabolismo Ácido de las Crasuláceas (CAM).	13
Figura 8. Anatomía de la hoja de <i>Portulaca oleracea</i>	21
Figura 9. Variación diurna de la apertura Estomática de una <i>Crassulaceae</i>	22
Figura 10. Efecto del agua aplicada en las relaciones hídricas y productividad de la vid (<i>Crimson Seedless</i>), • conductancia estomática.	23
Figura 11. Evolución de la resistencia estomática en <i>Aloe vera</i> durante un periodo de 24 h.	25
Figura 12. Cambio circadiano de acidez titulable en la savia de a).- fique (<i>Furcraea castilla</i>) y b).- fique (<i>Furcraea macrophylla</i>).....	26
Figura 13. Relaciones hídricas de <i>Prosopis Tamarugo</i> Phil. Uso de isotopos estables.....	27
Figura 14. Monitoreo de la variación del contenido de glucanos totales y almidón durante 24h en <i>Ananas comosus</i> (L.)	29
Figura 15. Conductancia estomática evaluada durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> , sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas.	33
Figura 16. Conductancia estomática evaluada durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> , sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas.	34
Figura 17. Resistencia estomática evaluada durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas.	36
Figura 18. Resistencia estomática evaluada durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas.	36
Figura 19. Acidez titulable evaluada durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas.....	38
Figura 20. Acidez titulable evaluada durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas.....	38
Figura 21. Acumulación de azúcares evaluada durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de <i>Dasyilirion cedrosanum</i> sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas.	39

Figura 22. Acumulación de azúcares evaluada durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas.	40
Figura 23. Monitoreo de los °Brix durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas.	41
Figura 24. Monitoreo de los °Brix durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de <i>Dasyllirion cedrosanum</i> sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas.	42

RESUMEN

Dasyilirion cedrosanum Trel., es una planta de importancia comercial para la elaboración de una bebida alcohólica llamada sotol, sin embargo, hay muchos aspectos bioquímicos que se desconocen de esta planta, entre ellos, se encuentra el tipo de metabolismo fotosintético que lleva a cabo. Por lo anterior, se propuso el actual trabajo de investigación con el objetivo de determinar si el metabolismo fotosintético de *D. cedrosanum* es C3, C4 o CAM. Los estudios experimentales se realizaron en plantas que recibieron nutrición (Solución Steiner al 25%) y riego adecuado durante 7 semanas, y posteriormente, fueron sometidas durante dos semanas a estrés hídrico. Durante 24 horas consecutivas se cuantificó la conductancia estomática, resistencia estomática, °Brix, azúcares totales y acidez titulable, estas determinaciones se realizaron en dos fechas diferentes con lotes distintos de plantas. La mayor conductancia estomática se registró en el envés de las hojas mostrando una apertura estomática en las primeras horas de la mañana; en el caso de la resistencia estomática el incremento ocurrió durante el atardecer, manteniéndose constante durante toda la noche. Los valores de azúcares totales y la acidez titulable no variaron durante las 24h. Los niveles de °Brix aumentaron durante las horas de luz. De acuerdo a los parámetros analizados se observa que la apertura ocurre alrededor de las 7:00 am y se mantienen abiertos hasta aproximadamente las 6:00 pm, con lo cual deducimos que la planta presenta un comportamiento característico al metabolismo fotosintético C3 o C4.

Palabras claves: *Dasyilirion cedrosanum*, metabolismo, resistencia, conductancia, °Brix.

I. INTRODUCCION

El sotol *Dasyliirion cedrosanum* Trel. es un importante componente ecológico en zonas áridas y semiáridas del Sur de Estados Unidos y Norte de México que contribuye al mantenimiento del suelo y que ha formado parte integral de la historia humana desde que los pobladores nómadas consumían su tallo o piña. En la actualidad tiene una importancia económica creciente debido a la producción de una bebida alcohólica a partir de la fermentación de su piña, la cual tiene como denominación de origen "sotol" para los estados de Coahuila, Chihuahua y Durango (Poinar *et al.*, 2001). A pesar de la importancia económica y comercial de *Dasyliirion cedrosanum* es poca la información disponible acerca de la composición bioquímica y genética de la planta, así como, tampoco se ha logrado establecer el tipo de metabolismo fotosintético de ésta. Por lo anterior, el objetivo de esta investigación se centró en la determinación del tipo de metabolismo fotosintético de plantas de *D. cedrosanum* sometidas a estrés hídrico por medio de la cuantificación de parámetros relacionados con el intercambio gaseoso de CO₂ y vapor de agua (resistencia estomática y conductancia estomática), así como de análisis tradicionales basados en variables bioquímicas que evalúan la acumulación de azúcares (azúcares totales y °Brix) y acumulación de ácidos orgánicos (acidez titulable).

1.1 Justificación

Debido a que no existe un reporte científico con comprobación experimental que indique el tipo de metabolismo fotosintético en *Dasyllirion cedrosanum*, se propuso evaluar en condiciones controladas de nutrición y estrés hídrico el comportamiento fotosintético en esta planta.

1.2 Objetivo general

Establecer el tipo de metabolismo fotosintético en plantas de *Dasyllirion cedrosanum* sometidas a condiciones controladas de nutrición y estrés hídrico.

1.3 Objetivos específicos

- Evaluar el comportamiento del almacenamiento de azúcares y ácidos orgánicos durante 24 horas consecutivas en hojas de *Dasyllirion cedrosanum*.
- Evaluar el cambio de la resistencia y conductancia estomática durante 24 horas en el tejido fotosintético de *Dasyllirion cedrosanum*.
- Determinar mediante los resultados obtenidos el tipo de metabolismo fotosintético de la planta.

1.4 Hipótesis

Las plantas de *Dasyllirion cedrosanum* sometidas en un ambiente de estrés hídrico presentan el metabolismo ácido de las Crasuláceas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 *Dasyilirion cedrosanum*.

Es una especie que se distribuye en el matorral desértico rosetofo y matorral crasirosulifolio espinoso, aunque también se encuentra en regiones semiáridas de las zonas de transición que ocupa una importante superficie en el territorio nacional, principalmente en los estados de Durango, Coahuila y Chihuahua (Marroquín *et al.*, 1981).

2.2 Clasificación botánica.

El género *Dasyilirion* ha sido ubicado en diferentes familias botánicas, tales como *Liliaceae* (Standley, 1920), *Amaryllidaceae*, *Agavaceae* (Hutchinson, 1934; Cronquist 1981) y *Nolinaceae* (Dahlgren *et al.*, 1985), sin embargo no se había realizado un estudio filogenético para *Dasyilirion* y géneros cercanos, hasta el publicado por Bogler (1994, 1995). Recientemente se le ubica en la familia *Asparagaceae* y la subfamilia *Nolinaceae* (USDA, ARS, National Genetic Resources Program, GRIN, 2013).

2.3 Descripción Morfología.

Dasyilirion cedrosanum tiene como características ser una especie perenne, dioica, semisuculenta, con espina en los bordes, policárpica, semicilíndrica grande que adquiere esta forma al ir desarrollando sus hojas muy angostas del centro hacia la periferia, produciendo un tallo en forma de “piña”, que puede alcanzar hasta 3 metros, con un peso de más de 100 kg (Melgosa y Santos, 2004; Bogler, 1994).

D. cedrosanum o “sotol ceniza” es una planta con tallos simples o ramificados con desarrollo de flores unisexuales con un solo tipo de gametos; es decir, se pueden encontrar plantas por separado con un escapo que desarrolla flores con estambres (masculinas) de color verde y plantas con flores que desarrollan pistilos (femeninas) color púrpura; las semillas son trígonas, de un color café oro, y con una superficie más o menos plana y rugosa. (Melgosa y Santos, 2004; Bogler, 1994; Hernández, 2008).

2.4 Distribución geográfica.

Este género comprende alrededor de 14 a 18 especies y se distribuye en el suroeste de los Estados Unidos y Norte de México (Bogler, 1994).

De acuerdo a Bogler (1994), en México existen 14 especies de este género las cuales son: *Dasyilirion ecotrichum*; *D. glaucophyllum* (estado de México.); *D. graminifolium*; *D. inermis* (San Luis Potosí); *D. leiophyllum* (Chihuahua y oeste de Coahuila); *D. longissimum*, (México); *D. miquihuanense* (Tamaulipas); *D. parrianum* (San Luis Potosí); *D. serratifolium* (sureste de México); *D. simplex* (Durango, México); *D. texanum* (norte de Coahuila); *D. texanum* var. *Avernas* (México); *D. wheeleri* (Sonora, Chihuahua y Durango); *D. cedrosanum* (centro y sur de Coahuila); *D. heteroteca* (norte de Coahuila).

El área de distribución de las poblaciones naturales de sotol (*Dasyilirion cedrosanum* Trel.) en México (Figura 1) se encuentra ubicada dentro la zona fisiográfica del Altiplano Mexicano: Coyame, Janos, General Trías, Manuel Benavides, Buenaventura, Jiménez y Dr. Belisario Domínguez, en el estado de Chihuahua; Ocampo, Parras y Saltillo, en Coahuila; Hidalgo y Peñón Blanco, en Durango; Tepetzotlán, Estado de México; Ixmiquilpan, Pachuca de Soto, Tasquillo y Tepeapulco, en Hidalgo; Bolaños, Jalisco; Concepción Buenavista y San Mateo Tlapiltepec, en Oaxaca; Tehuacán, en Puebla; Cedral, Coxcatlan, Mexquitic de Carmona, San Luis Potosí y Villa de Arriaga, en San Luis Potosí; Concepción de Oro, Pinos, Sombrerete y Valparaíso, en Zacatecas (Olhagaray, 1994).

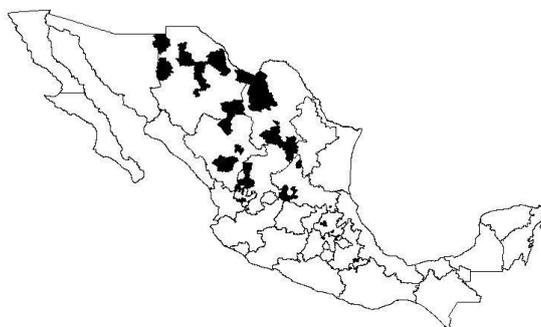


Figura 1. Distribución geográfica del género *Dasyilirion*
Fuente: (Olhagaray 1994).

2.5. Requerimientos edáficos.

Dasyilirion cedrosanum Trel., suele distribuirse en un rango de temperatura media anual entre 17 y 21 °C y de precipitación anual que oscila entre 150 y 400 mm. Los factores edáficos que conforman su distribución corresponden a Xerosoles, Rendzinas y Regosoles, en una gran riqueza en carbonatos de calcio, delgados, con poco desarrollo de horizontes de suelo, con buen drenaje y aireación (Zarate, 2003).

2.6 Usos e importancia económica.

Para los habitantes de las zonas áridas y semiáridas, el sotol (*Dasyilirion cedrosanum Trel.*) constituye un recurso natural de gran valor, ya que se usa como forraje para el ganado, construcción de cercas, elaboración de cestería y es utilizado para la elaboración de una bebida alcohólica llamada “sotol”. También se puede extraer inulina, la cual es de gran importancia en la industria farmacéutica (Vázquez, 2001; Bogler, 1994). Antiguamente en el estado de Zacatecas esta planta fue usada en rituales, ceremonias religiosas y en fiestas llamadas *mitotes*, así como también sirvió como alimento para las tribus irritilas y guachichiles que habitaron los montes semidesérticos de Mazapil (Robles *et al.*, 2002). Sin embargo, el uso más destacado que se le ha dado a esta planta ha sido para la elaboración de la bebida alcohólica conocida como “sotol” elaborada a partir de la fermentación de las piñas de algunos géneros de *Dasyilirion*, sin embargo, dicho aprovechamiento se presenta de manera desordenada, lo que ha provocado una drástica disminución de sus poblaciones en Chihuahua y Durango (Cruz, 2002). Dentro de los conocimientos básicos sobre el género *Dasyilirion* solo hay reportes que hacen referencia a la composición bioquímica de la planta y la optimización del proceso de elaboración del sotol, no hay reportes con datos experimentales que nos den a conocer algunas características importantes de la planta, como lo es el tipo de metabolismo fotosintético que se lleva a cabo en plantas de este género. Para determinar el tipo de metabolismo fotosintético de *Dasyilirion cedrosanum* es importante conocer cuántos tipos metabólicos fotosintéticos existen, en que se diferencian unos de otros, esto en cuanto a los metabolitos químicos que

producen estructuras celulares de la planta y factores ambientales que influyen en la existencia de dicho proceso fotosintético. Es por ello que se explicaran algunos conceptos referentes a este tema.

2.7 Fotosíntesis.

Es un proceso biológico complejo en el que pueden distinguirse dos fases bien diferenciadas (Figura 2), una primera fase de absorción y conservación de energía, y una segunda fase de toma y asimilación de elementos constitutivos de la materia orgánica (De las Rivas, 2004).

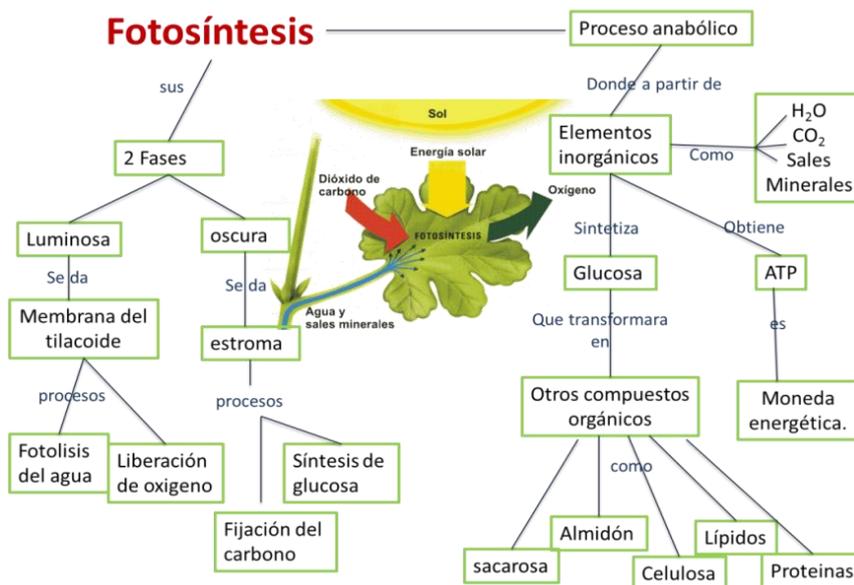


Figura 2. Fases de la Fotosíntesis

La fotosíntesis también se divide en 2 fases (Figura 3): la fase lumínica y fase oscura.

2.7.1 La fase lumínica.

En esta etapa, también llamada fotodependiente, se lleva a cabo solo en presencia de la luz. Durante la fase lumínica ocurren dos procesos bioquímicos necesarios para la síntesis de glucosa: la reducción de NADP^+ a $\text{NADPH} + \text{H}^+$ ocurre mediante la adición de los hidrógenos de la molécula de agua al NADP^+ en presencia de Fosforo inorgánico, luz y ADP, con la consecuente síntesis de

ATP, NADPH + H⁺, una molécula de agua y media molécula de Oxígeno (García, 2009).

2.7.2 La fase oscura o bioquímica

La fase oscura es una serie de reacciones de reducción del carbono independientes de la luz. En esta fase se utilizan las moléculas de energía producidas en la fase lumínica que formaran enlaces covalentes carbono-carbono (C-C), entre moléculas de dióxido de carbono (CO₂) para originar carbohidratos, tales como: glucosa, fructosa y almidón. Estas reacciones pueden realizarse en la oscuridad, con la condición de que la fuente de energía (ATP) y el poder reductor (NADPH) formados en la luz se encuentren presentes (Gómez, 2008).

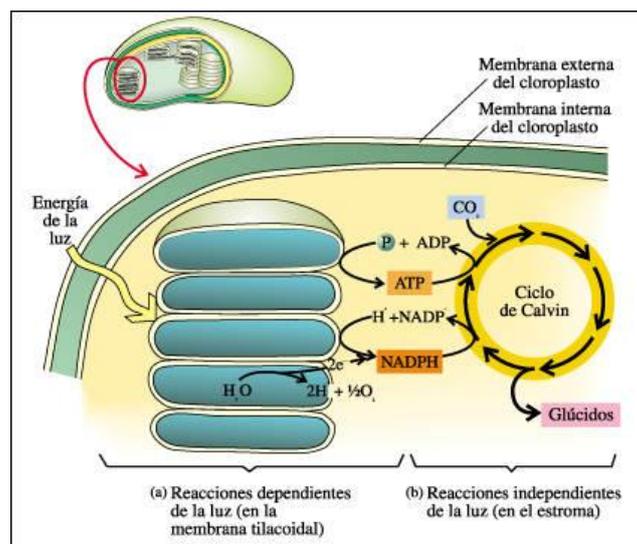


Figura 3. Fase Oscura y Fase Luminosa de la Fotosíntesis.

Dentro de la fotosíntesis el Dióxido de Carbono (CO₂) es la molécula de mayor importancia debido a que ella inicia los procesos que darán origen a la producción y acumulación del ácido málico o de los azúcares, ya sea durante el día o la noche.

La fijación del CO₂ se lleva a cabo mediante la apertura estomática de la célula a través de reacciones reductoras, la cual generalmente se produce durante el día en plantas conocidas como C₃, el CO₂ fijado es transformado por vía enzimática en ácido málico el cual vuelve a degradarse en CO₂ que posteriormente entra al Ciclo de Calvin para transformarse en azúcares. A la par

de estas plantas se han derivado otras plantas que han desarrollado rutas metabólicas fotosintéticas auxiliares, que les permiten crecer eficazmente en zonas tropicales (plantas C4) o desérticas (plantas CAM) (Nelson; 2006).

2.8 Tipos de metabolismos fotosintéticos.

El intercambio gaseoso de las plantas se realiza principalmente por vía estomática y está compuesto por flujos de agua desde la planta hacia el medio (transpiración), de oxígeno y CO₂ desde el ambiente hacia la planta, a través del proceso de fotosíntesis: liberación de O₂ y fijación de CO₂, también por respiración celular: liberación de CO₂ y absorción de O₂. De acuerdo a la relacionan de estos flujos está fuertemente determinado por el tipo de metabolismo de las plantas (Sage, 2004; Sayed, 2001; Acevedo *et al.*, 2007).

En general, en el reino vegetal se han identificado tres principales tipos de metabolismos fotosintéticos (fijación del CO₂): C3, C4 y CAM. Las plantas de cada uno de estos metabolitos abren y cierran sus estomas a diferentes horas del día, varía el tipo de enzimas para la fijación inicial del CO₂ y los patrones en la absorción neta de CO₂.

2.9 Metabolismo fotosintético C3.

Es el conjunto de reacciones que propician la fijación y asimilación reductiva del CO₂ el cual forma compuestos orgánicos (CH₂O)_n, con una estructura de tres átomos de carbono. Las reacciones del metabolismo fotosintético C3 (Figura 4) son: carboxilación, reducción y regeneración de la RIBULOSA, en estas etapas participan gran cantidad de moléculas y enzimas para finalmente obtener los carbohidratos (Robinson y Walker, 1981). Díaz, 2011 define al ciclo C3 como un proceso autocatalítico que involucra 13 etapas, las cuales transcurren en el estroma de los cloroplastos de las células fotosintéticas, dentro de las cuales el CO₂ es transformado por diversas enzimas en ácido málico, que posteriormente es almacenado en la vacuola. Con la llegada del día se cierran los estomas, lo que detiene la asimilación de CO₂ y previene la pérdida de agua, posteriormente

se metaboliza el ácido málico produciéndose CO_2 , que en conjunto con el ATP y el poder reductor generado en las reacciones luminosas de la fotosíntesis, es reducido hasta formar los carbohidratos (Black y Osmond, 2003).

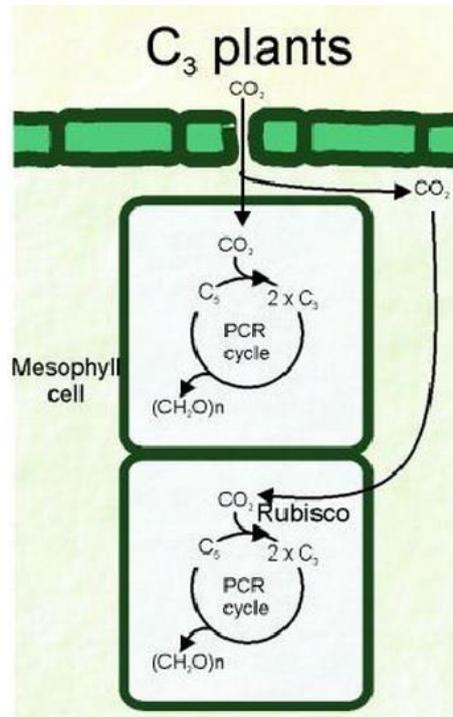


Figura 4. Fase Oscura y Fase Luminosa de la Fotosíntesis.

2.9.1 Ciclo de Calvin en plantas C₃.

El Ciclo de Calvin (Figura 5) inicia cuando el ATP dona un grupo fosfato, este a su vez convierte la Ribulosa fosfato en Ribulosa Difosfato, la adición de dióxido de carbono (CO_2) forma un compuesto intermediario inestable que rápidamente se divide en dos moléculas de ácido 3-Fosfoglicérico (PGA); posteriormente una molécula más de ATP reacciona con las dos moléculas de ácido 3-Fosfoglicérico (PGA) (molécula de 3C) donándoles a cada una un grupo fosfato adicional con lo que se produce el ácido Difosfoglicérico (DPGA) o 1,3-Fosfogliceraldehido (molécula de 3C) (García, 2010) . Las moléculas de NADPH_2 de la reacción luminosa proporcionan nueva energía y transforma ambas moléculas de DPGA o 1,3-Fosfogliceraldehido a gliceraldehido-3-fosfato (PGAL) en una molécula de glucosa (molécula de 6C) mediante el proceso de glucogénesis. El ciclo se cierra con la regeneración del aceptor (Ribulosa Difosfato) a partir del gliceraldehido-3-fosfato (PGAL) y el consumo de ATP (Garcia, 2009 y De las Rivas, 2004).

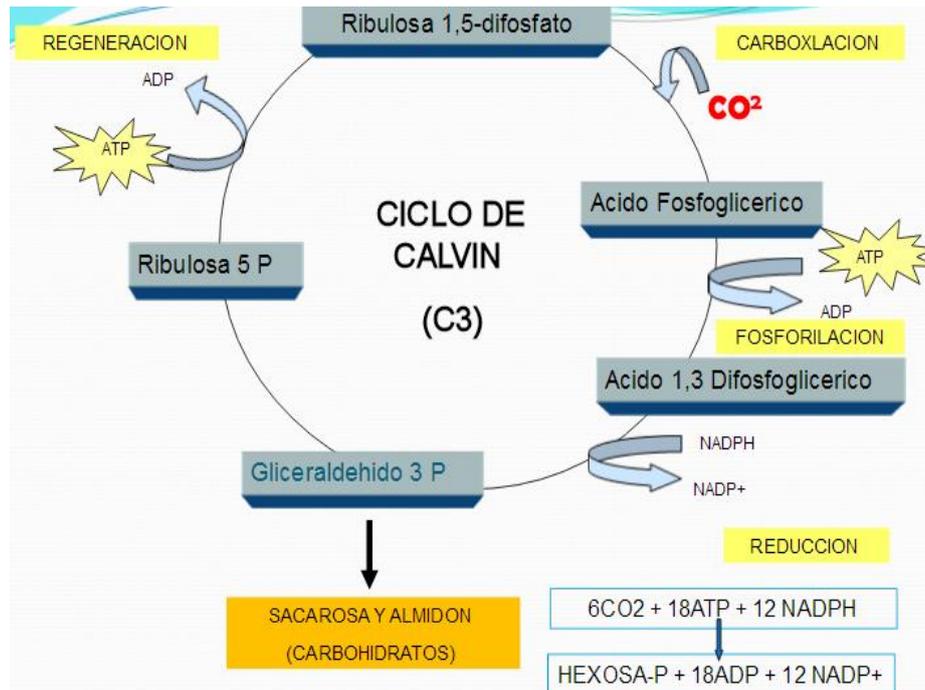


Figura 5. Representación del Ciclo de Calvin en una planta C3

2.10 Metabolismo fotosintético C4.

La fotosíntesis C4 apareció en la biosfera cuando la concentración atmosférica de CO₂ disminuyó a niveles que limitaban la fotosíntesis está a la vez evolucionó en diferentes familias de plantas superiores a partir de 45 núcleos independientes, está ampliamente aceptada que este proceso surgió en ancestros C3 que adquirieron ventajas adaptativas ante los cambios globales del ambiente. Estas especies exhiben altas velocidades de crecimiento y de fotosíntesis debido a la ganancia en la eficiencia del uso de agua, carbono y nitrógeno (Hatch, 1992).

La fotosíntesis C4 está presente en 7500 especies de plantas con flores, (3% de las 250.000 especies de plantas terrestres) constituidas por gramíneas (4500 especies), juncos (1500 especies) y dicotiledóneas (1200 especies) (Sage, 2004).

La característica clave de la fotosíntesis C4 (Figura 6) es realización de un mecanismo que permite que el CO₂ se concentre en las hojas, dicho mecanismo consiste en una serie de modificaciones bioquímicas y estructurales alrededor de la ancestral ruta fotosintética de la C3, estas presentan las células de la tónica

vascular en torno a los vasos y las células del mesófilo (Hatch, 1987). El mecanismo adaptativo opera como una bomba encargada de aumentar la concentración de CO_2 en la proximidad del centro activo de la RUBISCO (RUB) para favorecer la actividad carboxilasa. Aunque en la mayoría de las plantas C_4 la fotosíntesis se produce por la acción concertada de las células del mesófilo y las células de la vaina vascular (Osborne y Beerling, 2006).

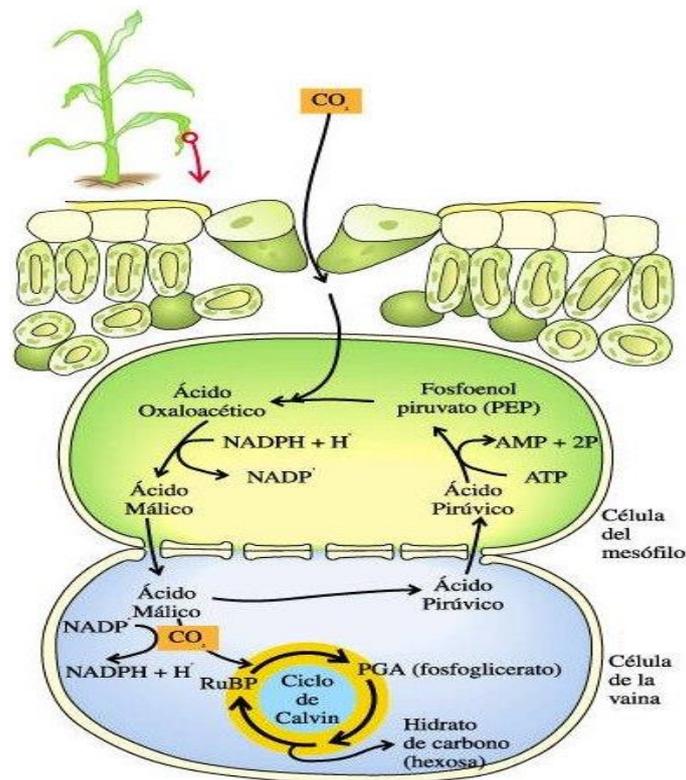


Figura 6. Vía fotosintética de plantas C_4 .

2.10.1 Reacciones del Metabolismo C_4 .

En el Ciclo C_4 el CO_2 se difunde a través de la membrana de las células del mesófilo y entra a la reacción oscura al ser fijado al fosfoenolpiruvato (PEP) (una molécula de 3 carbonos) para dar origen al ácido oxalacético (un compuesto de cuatro carbonos) mediante la acción de la enzima PEP carboxilasa. Posteriormente el NADPH_2 se une al oxalacetato y lo reduce para originar al ácido málico o malato (molécula de cuatro carbonos), posteriormente el malato no solo se difunde fuera del cloroplasto sino que va a la célula del mesófilo y a las células envainadas donde entra a los cloroplastos, donde el malato es

descarboxilado dando como productos un compuesto de tres carbonos llamado piruvato y CO_2 , y originando la reducción del NADP para formar NADPH₂. El CO_2 liberado por el malato entra al ciclo de Calvin para dar origen a la producción de carbohidratos. Mientras el piruvato se difunde hacia las células del mesófilo en donde encuentra al ATP y se convierte en Fosfoenolpiruvato (PEP), el cual inicia el ciclo al tomar al CO_2 para formar nuevamente al oxalacetato. El factor limitante en el Ciclo de Calvin, y por lo tanto, en la producción de glucosa, es la escasez de CO_2 (Lehninger *et al.*, 2000).

2.11 Metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM).

Se les conoce con el nombre de CAM, por que el metabolismo fue descrito por primera vez en la familia *Crassulaceae*, este consiste en que el CO_2 es almacenado en forma de ácidos antes de ser usados en la fotosíntesis. Son las plantas adaptadas a condiciones de temperatura y sequedad extrema, muchas plantas suculentas utilizan el mecanismo fotosintético CAM, por que prioriza la economía del agua tratando de no poner barreras a la economía del carbono. Al revés que la mayoría de las plantas comunes de ciclo de carbono 3 o carbono 4 que mantienen abiertos los estomas durante el día para permitir la entrada del gas dióxido de carbono con fines fotosintéticos, las plantas que utilizan la vía CAM mantienen los estomas cerrados durante las horas de luz (Geydan y Melgarejo, 2005).

El Metabolismo Ácido de las Crasuláceas (CAM) es un mecanismo fotosintético de concentración de CO_2 en donde las células fotosintéticas incorporan CO_2 durante la noche y lo asimilan en forma de carbohidratos durante el siguiente período de luz (Figura 7). Este metabolismo implica la separación temporal de la fijación primaria del CO_2 en forma de ácidos C₄ (usualmente malato) de su asimilación por medio de la RuBisCO (RUB), y su posterior incorporación secundaria del carbono en forma de carbohidratos (Cushman y Bohnert, 1997). En este metabolismo la actividad carboxilasa de tres carbonos (ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa: Rubisco) y el de cuatro carbonos (fosfoenol piruvato carboxilasa) ocurren en una misma célula, con actividad enzimática separada temporalmente (Dodd *et al.*, 2002).

El metabolismo CAM se caracteriza por presentarse como un ritmo circadiano endógeno, persistiendo aún en condiciones de oscuridad continua en presencia de aire libre de CO₂ o bajo iluminación constante en aire normal (Wilkins, 1960).

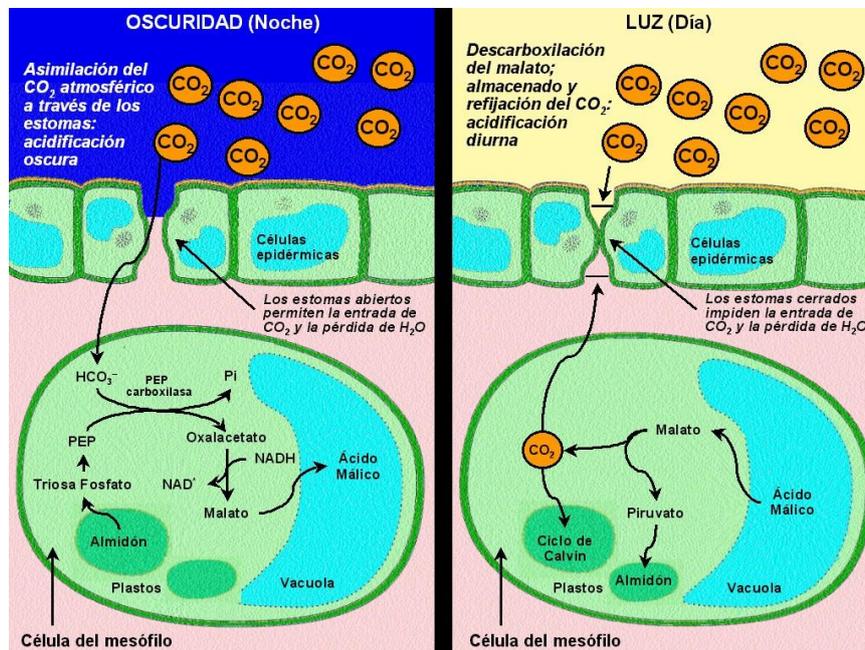


Figura 7. Metabolismo Ácido de las Crasuláceas (CAM).

2.11.1 Vía Fotosintética del Metabolismo Ácido de las Crasuláceas (CAM).

Durante la Fase I (lado izquierdo, Figura 7) se origina la toma nocturna de CO₂ a partir de la apertura estomática y rompimiento de carbohidratos de reserva resultando en la formación de Fosfoenolpiruvato (PEP), que sirve como sustrato para la fijación de CO₂ por parte de la fosfoenol piruvato carboxilasa (PEPC), llevando así a la producción ácido oxalacético (OAA) y a la reducción de malato por el malato deshidrogenasa (MDH). El Fosfoenolpiruvato (PEP) es suministrado por la formación y exportación glicolítica de 3-fosfoglicerato del cloroplasto vía transportadores Fosfato inorgánico (Pi). El malato es transportado dentro de la vacuola por un canal iónico selectivo ubicado en el tonoplasto. A medida que la planta es expuesta al efecto de la luz, los estomas se cierran gradualmente y la fijación de CO₂ externa cesa. En la Fase III (lado derecho de la Figura 7), el malato es liberado de la vacuola de forma pasiva y es descarboxilado llevando a la liberación de CO₂ y la formación de piruvato por parte del Piruvato Fosfato diquinas (PPDK), además se produce una refijación más

asimilación del CO₂ en el Ciclo de Calvin, tras el cierre estomático. La descarboxilación del malato ocurre concurrentemente con un incremento de CO₂ intracelular suprimiendo en parte, la fotorrespiración. El CO₂ liberado es reasimilado por la RuBisCo (RUB) mediante el ciclo fotosintético de reducción del carbono (PCR). El Piruvato y el Fosfoenolpiruvato (PEP) abastecen la gluconeogénesis para regenerar el conjunto de carbohidratos de reserva. Entre estas dos fases existen transiciones en las que los estomas permanecen abiertos para la toma de CO₂ por lapsos cortos durante el amanecer (Fase II) (Geydan y Melgarejo, 2005). En la Fase IV, durante el atardecer las concentraciones internas de CO₂ decaen y los estomas pueden abrirse permitiendo la fijación directa del CO₂ exógeno por parte de la RuBisCo (RUB) a carbohidratos. La fosfoenol piruvato carboxilasa (PEPC) puede tornarse activa durante esta fase a medida que las concentraciones de malato citoplasmático disminuyen. La (Figura 7) también muestra la contribución mitocondrial a la formación y descarboxilación de malato (Cushman y Bohnert, 1997). La fase II y IV responden de manera sensible a parámetros ambientales imperantes (Geydan y Melgarejo, 2005).

Las plantas CAM pueden clasificarse en *CAM obligadas* o *CAM constitutivas*, las cuales exhiben dicho metabolismo independientemente de cualquier factor interno o externo, y en especies *CAM facultativas* o *CAM inducibles*, en las que el CAM se presenta como resultado de condiciones ambientales particulares o del desarrollo (Lüttge, 2004; Herrera, 2009).

2.12 Transición C3-C4 en la evolución de la fotosíntesis C4.

El género *Flaveria* es un ejemplo viviente de esta fase porque presenta no sólo tanto plantas C3 como C4 típicas sino también numerosos estados intermedios. Congruente con esta característica, la actividad fosfoenol piruvato carboxilasa (PEPC) de las plantas C3 es 40, 20 y 5 veces menor que las especies C4 típicas, *Flaveria linearis* y *Flaveria brownii* (intermedias C3-C4), respectivamente. (Monson y Moore 1989).

La transición de la forma C4 a la C3 procede gradualmente cuando las plantas terrestres son sumergidas pero el cambio inverso ocurre comparativamente más rápido cuando plantas acuáticas son transferidas al aire (Agarie *et al.*, 2002).

Las plantas C4 poseen una distribución ecológica y biogeográfica más restringida que las C3, predominando en las zonas áridas y salinas del planeta (Sage y McKown, 2006).

2.13 Transición de metabolismo fotosintético C4 a metabolismo tipo CAM.

En la literatura se encuentran descritas numerosas transiciones entre los metabolismos C3 y CAM, y algunos casos entre C3 y C4. Contrariamente, a las transiciones previamente mencionadas, el cambio de fotosíntesis C4 a CAM en familias que contienen especies tanto CAM como C4 ha sido poco descrito, lo que hace de esta combinación un fenómeno interesante (Sage, 2002). Dicha transición solamente ha sido descrita en plantas suculentas C4 pertenecientes al género *Portulaca* cuando son sometidas a condiciones de estrés hídrico o de fotoperíodos cortos (Lara y Andreo, 2005).

2.14 Características diferenciales entre los metabolismos fotosintéticos.

En el Cuadro 1 se resume la información disponible sobre algunas características sobresalientes, tales como la ubicación celular en que se da la fijación del CO₂, el patrón de intercambio de CO₂ para cultivos bajo condiciones óptimas, así como las productividades máximas anuales de materia seca de vanos grupos de plantas.

Cuadro 1. Características enzimáticas, estructurales y tasa máxima de fijación de CO₂ en plantas con tres metabolismos fotosintéticos diferentes.

Senda	Enzima involucrada	Ubicación celular en que se efectúa la fijación.	Tasa máxima de toma neta de CO ₂ . (nmol m ² s ⁻¹)	Productividad anual (peso seco) (t ha ⁻¹ año ⁻¹)
C3	Rubisco	Cloroplastos de células del clorénquima.	40	35 (anuales) y 39 (arboles)
C4	PEPCasa	Inicia con la PEPCasa en el citosol de las células del clorénquima, para entregar CO ₂ a los cloroplastos de las células de la vaina del haz vascular.	50	49 (Cultivos: maíz, sorgo, caña de azúcar, y varios pastos).
CAM	PEPCasa (Noche)	Citosol de las células del clorénquima. El malato resultante es transportado a una gran vacuola central.	34 (<i>Amapisaga</i>)	45-50 (<i>Opuntia ficus-indica</i> y <i>Opuntia amyoclea</i>)
	Rubisco (día)	Cloroplastos de células del clorénquima.	20 (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	35 (Otras CAM)

Fuente: Preparado con base en los reportes de (Nobel 1994; Nobel 1995).

En el Cuadro 2 se denota algunas características fotosintéticas, morfológicas y fisiológicas diferenciales entre plantas con metabolismo fotosintético C3, C4 y plantas CAM, destacándose las plantas C3 con una mayor frecuencia de estomas y tasa de transpiración, y por lo tanto, una mayor fotosíntesis neta. Por otro lado, se observa que la densidad estomática disminuye en plantas que crecen en temperaturas por arriba de los 30°C, por lo tanto la tasa de transpiración baja asegurando una menor pérdida de agua, estas plantas tienen un crecimiento menor a comparación de las plantas C3 y C4.

Cuadro 2. Comparación entre plantas C3, C4 Y CAM.

CARACTERÍSTICAS	C3	C4	CAM
EUA (g por kg H2O)	1-3	2-5	1-8
Frecuencia Estomática (estomas mm⁻²)	400-300	<160	10-40
Tasa de Transpiración (g/g⁻¹ s⁻¹)	450-900	250-350	45-55
Tasa de Crecimiento Relativo (g g⁻¹ d⁻¹)	5-20	30-50	0-0.5
Temperatura Óptima (°C)	15-25	25	Más de 30
Fotorrespiración	Hasta 40% de fotosíntesis neta	Muy pequeña o inexistente	Difícil de estimar

Fuente: En base de (Nobel, 1999).

Según la fijación del carbono las plantas superiores se clasifican en C3, C4 y plantas con el metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM). Las especies C3 fijan el CO₂ a través del ciclo de Calvin operante en las células del mesófilo. La fotosíntesis C4 requiere de la coordinación de las funciones de las células mesofílicas (CM) y de las células de la vaina vascular (CVV), las cuales presentan un complemento enzimático diferencial Cuadro 3. En general, las plantas CAM bien regadas absorben CO₂ en la mañana y al final de la tarde, mientras que las plantas C3 y C4 no absorben CO₂ durante la noche, este comportamiento se muestra en los datos del Cuadro 3. Otro factor importante que se presenta como una diferencia entre plantas C3, C4 y CAM es la densidad de estomas, la cual varía en las hojas de las plantas con diferente metabolismo fotosintético, dicha variación se origina, tanto en el haz, como en el envés de la hoja (Cuadro 2).

Cuadro 3. Principales características y Enzimas que participan en los diferentes tipos de metabolismos fotosintéticos.

VIA	C3	C4	CAM
Enzima responsable de la carboxilación inicial	Rubisco	Fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC)	Rubisco y Fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC)
Carboxilasa final	RuBisCO	RuBisCO	RuBisCO
Primer producto de la carboxilación	Ácido fosfoglicérico	Ácido oxalacético	
Anatomía de la hoja	Células de la vaina del haz sin apenas cloroplastos (Normal)	Células de la vaina del haz con grandes cloroplastos (Kranz)	Células con grandes vacuolas (Suculentas)
Primer producto estable de la fijación de CO ₂	PGA	Malato	Malato
Tasa de fotosíntesis	Media	Alta	Baja
Inhibición de la fotosíntesis por el oxígeno	Si	No	Si durante el día; no durante la noche (caso de la fijación oscura del CO ₂)
Eficiencia en el uso del agua	Baja	Media	Alta
Hábitat	Amplio	Áreas tropicales abiertas y hábitat árido	Regiones y hábitat árido

Fuente: Modos de relaciones medioambientales e influencia ontogénica adaptado de (Cushman, 2001).

2.15 Densidad Estomática.

Los estomas (Figura 8) son grupos de dos o más células epidérmicas especializadas, están presentes en las hojas de todas las plantas superiores y en órganos de plantas primitivas tales como musgos y hepática (Escobar, 2005). Su función es doble: permiten la regulación del intercambio gaseoso y mantienen un adecuado nivel hídrico en la planta cuando la enzima Rubisco (RUB) se encuentra inactiva (Cushman y Borland, 2002).

Los estomas son reguladores decisivos de los procesos de difusión. La variación de la apertura del poro estomático dirigirá simultáneamente el control de la entrada del CO₂ a la hoja y la liberación del vapor de agua. La resistencia estomática a la difusión aumenta en gran medida con la reducción de la apertura de poros (Alves *et al.*, 2007). Los estomas normalmente están en el envés de las hojas de las plantas, sin embargo, en algunas especies podemos encontrar los estomas tanto en el haz como en el envés de sus hojas. Las plantas con mayor número de estomas en el haz son llamadas epiestomáticas, las que tienen mayor número en el envés son hipoestomáticas (caso de la mayoría de las hortalizas), mientras que aquellas con un número aproximadamente igual de estomas en haz y envés son ambiestomáticas (Gates, 1980).

El número y tamaño de los estomas dependen del: tipo de planta, condiciones del hábitat y localización de las hojas. Plantas de localidades secas expuestas al sol, en las hojas de posiciones superiores en el tallo, presentan mayor densidad de estomas y más pequeños. Plantas de sombra de localidades húmedas, en las hojas localizadas en posiciones bajas del tallo, presentan menor densidad de estomas y más grandes Cuadro 4.

Cuadro 4. Número de estomas de algunas plantas C3, C4 y CAM.

Metabolismo fotosintético	Nombre común	Nombre científico	Número de estomas		Referencia Bibliográfica
			Haz	Envés	
C3	Aguacate	<i>Persea americana</i>	67	785	Escobar, 2005; O'Reilly <i>et al.</i> , 1984.
	Esparrago	<i>Asparagus officinalis</i>	90.43	85.12	Zarinkamar, 2006; Bai y Kelly, 1999.
	Café	<i>Coffea arabica</i>	0	83	Escobar, 2005; Da Matta <i>et al.</i> , 2001; Mosquera <i>et al.</i> , 1999.
C4	Maíz	<i>Zea mays</i>	12.0	14.2	Garuba <i>et al.</i> , 2014; Escalante <i>et al.</i> , 2008.
CAM	Orquídea (Cola de borrego)	<i>Notylia barkery</i>	0	84	Escobar, 2005; Silvera <i>et al.</i> , 2009.
	Sábila	<i>Aloe Vera</i>	16	21	Gil <i>et al.</i> , 2006; Silva <i>et al.</i> , 2014.

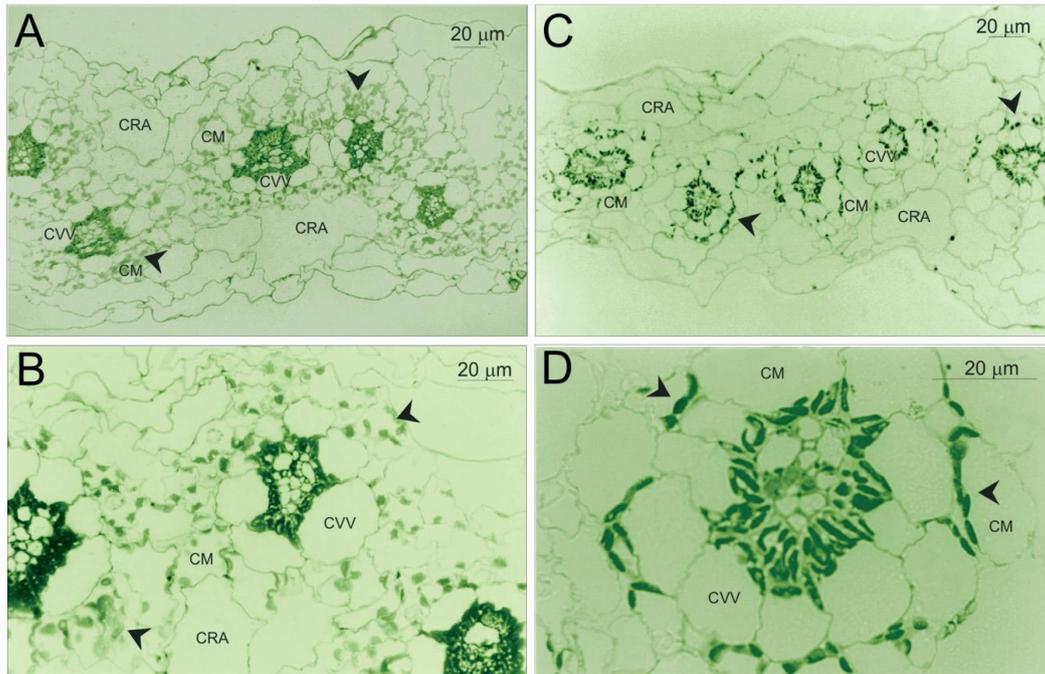


Figura 8. Anatomía de la hoja de *Portulaca oleracea*. Control (A y B) y luego de 21-23 días de estrés hídrico (C y D) con distintos aumentos, 20 X (A, C) y 100 X (B, D). Las flechas indican la localización de los cloroplastos mesofílicos. Abreviaturas: CRA, células de reserva de agua; CM: células mesofílicas; CVV, células de la vaina vascular (Lara *et al.*, 2003).

2.16 Conductancia y Resistencia estomática.

La conductancia estomática, así como la resistencia estomática son parámetros que difieren en plantas con metabolismo C3 o C4 en comparación con plantas que tienen un Metabolismo típico de las Ácido de las Crasuláceas.

2.16.1 Conductancia estomática.

La conductancia estomática hace referencia a la apertura estomática, la cual se ve afectada por factores, tales como: el número, forma y amplitud de apertura de los estomas; a la vez estos factores se encuentran en función de los factores ambientales y factores internos de la planta (Farquhar y Sharkey, 1982).

Algunos otros factores que afectan la conductancia estomática es el período de vida en las hojas, ya que en las hojas de vida corta la conductancia estomática desciende rápidamente mientras que en hojas de larga duración (hojas de árboles, arbustos), la máxima conductancia estomática se alcanza durante la expansión foliar o simultáneamente a la superficie máxima desciende muy

lentamente de acuerdo a los cambios en los factores ambientales: disponibilidad hídrica, agentes patógenos, etc. (Araus y Caballero, 1983).

La función de la conductancia estomática se centra en disminuir la transpiración, que a la par resulta en la reducción de la asimilación de CO₂ y vapor de agua, siendo estos dos últimos factores proporcionales a la conductancia estomática, es decir, el estoma responde directamente a un déficit hídrico mediante el cierre estomático, para evitar la pérdida excesiva de agua por transpiración (Dood *et al.*, 2002; Solarte, 1992). La temperatura cálida día/noche combinada con sequía disminuye la apertura estomática y la actividad de las enzimas fotosintéticas, lo que reduce la asimilación neta de CO₂ (Pimienta *et al.*, 2004).

La conductividad estomática es uno de los parámetros empleados para la determinación del metabolismo fotosintético en la plantas, un ejemplo de ello son las plantas CAM, las cuales abren los estomas durante la noche cuando las pérdidas de agua son mínimas, de tal forma que la absorción de CO₂ se realiza con mínima pérdida de agua. En el período luminoso diurno, al estar cerrados los estomas, ocurre en una disminución en la conductancia estomática (Figura 9), lo que minimiza la pérdida de agua, y la fotosíntesis procede debido a la generación interna de CO₂ por descarboxilación de ácido málico (Hernández; 2013).

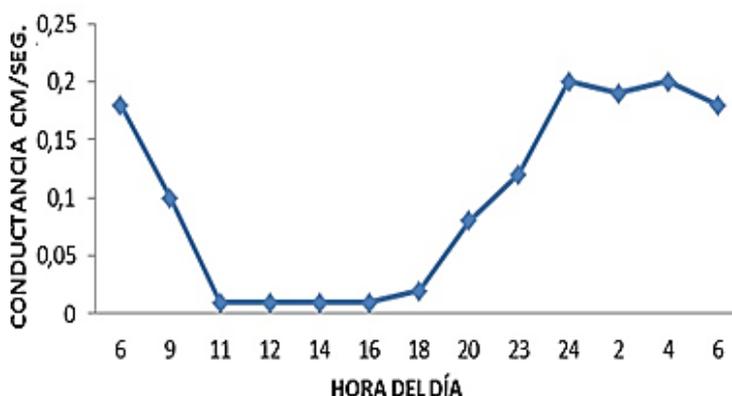


Figura 9. Variación diurna de la apertura Estomática de una *Crassulaceae*. (Hernández, 2013).

Otro ejemplo del comportamiento de la conductancia estomática es el que describe Ferreyra, 2006; quién evaluó la evolución diaria de este parámetro en plantas de *Crimson Seedless*, una planta de metabolismo C4 y observó dos puntos relevantes: que los valores máximos se producen en la mañana alrededor de las 7:00 a 8:00h y que el cierre estomático se llevaba a cabo alrededor de las 14:00 y 15:00h (Figura 10).

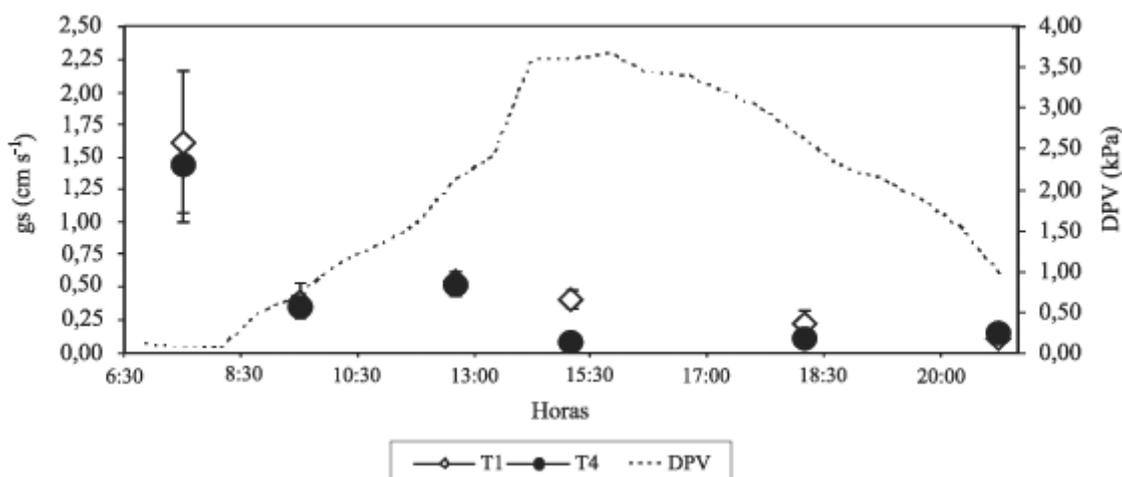


Figura 10. Efecto del agua aplicada en las relaciones hídricas y productividad de la vid (*Crimson Seedless*), • conductancia estomática (Ferreyra, 2006).

2.16.2 Resistencia estomática.

La resistencia estomática es una variable importante en la evaluación de la respuesta fisiológica de plantas al medio ambiente físico y biológico. Este factor es uno de los reguladores de la magnitud del vapor de agua que puede ser transferido a partir de la superficie de la hoja a la atmosfera por constante regulación de la respuesta de las plantas a una dinámica biofísica, medioambiental, de condiciones de agua del suelo, y concentración del CO₂ del entorno inmediato de la hoja (Irmak y Mutiibwa, 2009). Generalmente, la resistencia estomática se utiliza como referencia del cierre estomático, ya que el aumento de la resistencia estomática es un indicativo del cierre de estomas. En las plantas con suministro adecuado de agua, la apertura de los estomas reduce drásticamente la resistencia, que es salida de agua del interior de las hojas hacia la atmósfera. En estas condiciones, cuando las células guardan y reciben energía solar habrá fijación CO₂, con la consiguiente reducción de la

concentración de CO₂ en el interior de las células lo que resulta en la excreción activa de H⁺ y rápida absorción de K⁺ y, posteriormente, la apertura de los estomas (Alves *et al.*, 2007). Los niveles de transpiración y resistencia de estomas pueden variar diaria o estacional según la especie o variedad vegetal (Alves *et al.*, 2007).

La resistencia estomática se ve afectada por la anchura del poro, viéndose aumentado este parámetro al disminuir el ancho del poro del estoma (sigue a una curva hiperbólica), comportamiento inverso al que se presenta en la conductancia estomática (inversa a la resistencia) debido a que este parámetro es directamente proporcional a la anchura del poro (Araus y Caballero, 1983). Otro factor que afecta a este parámetro es la temperatura, Nobel, 1976 encontró que, cuando la temperatura de la hoja en la noche se incrementaba de 5 °C a 20 °C, la resistencia de los estomas aumenta cinco veces.

Autores, tales como, Rubino *et al.*, 1989 y Thakur, 1990, señalan que la disminución de la cantidad de estomas por mm² incrementa la resistencia estomática de la planta y evitando de esta manera un exceso de transpiración.

Es importante señalar que la resistencia estomática presenta un patrón inverso al de la transpiración, es decir, que a mayor transpiración hay una menor resistencia estomática, lo que permite el escape de agua del interior de la hoja a la atmósfera mediante el proceso de evaporación (Parra *et al.*, 2001).

Al igual que la conductancia estomática, el comportamiento de la resistencia estomática permite distinguir entre una planta C₃ o C₄ y una planta CAM. Gil *et al.*, 2006 monitoreo la resistencia estomática en *Aloe Vera* (una planta CAM) sometida a estrés salino, observándose que durante la mañana y primeras horas de la tarde hay un incremento en este parámetro, lo que indica que durante este período los estomas de *Aloe vera* se encuentran cerrados, comportamiento característico de las plantas CAM (Figura 11).

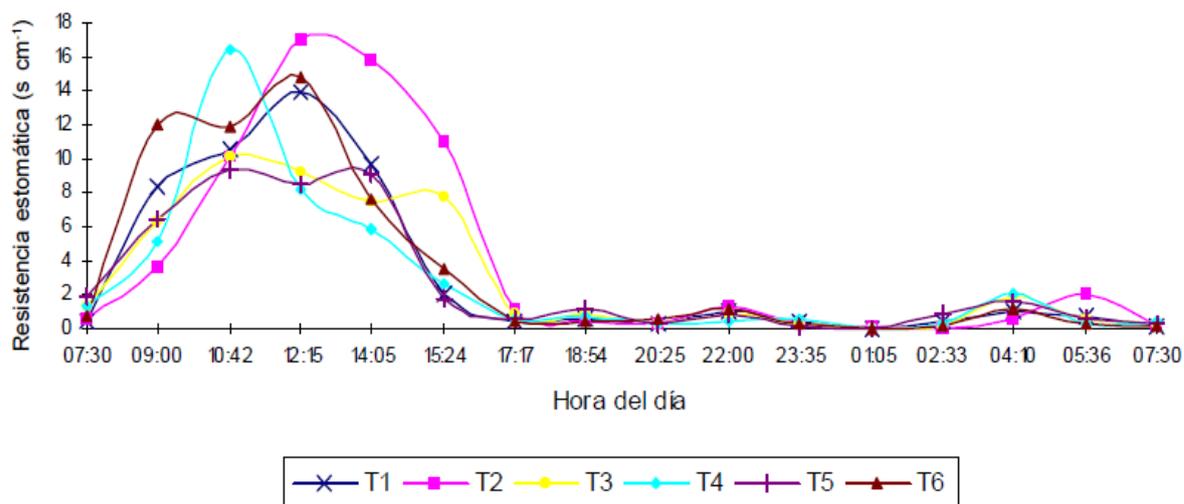


Figura 11. Evolución de la resistencia estomática en *Aloe vera* durante un periodo de 24 h. (7-11-2003). T1, acolchado plástico sin déficit hídrico; T2, acolchado plástico con déficit hídrico; T3, sombra sin déficit hídrico; T4, sombra con déficit hídrico; T5, sin cobertura plástica ni déficit hídrico; y T6, sin cobertura plástica con déficit hídrico (Gil et al., 2006).

El mecanismo de resistencia estomática a nivel fisiológico hace referencia al cierre de estomas, ya que éstos son los responsables de la mayor proporción de pérdida de agua en las plantas (Taiz y Zeiger, 2006).

El Cuadro 5 nos muestra la respuesta de la planta ante un cambio en la resistencia estomática o conductancia estomática.

Cuadro 5. Comparación entre la resistencia y conductancia estomática.

A > Resistencia o < Conductancia	Cierre de estomas.
A > Conductancia o < Resistencia	Apertura de estomas
A > Resistencia o < Conductancia	El CO ₂ no es consumido debido al cierre de los estomas.
A > Conductancia o < Resistencia	El flujo de luz provoca la apertura de los estomas
A > Resistencia o < Conductancia	El deterioro del estrés hídrico provoca el cierre de los estomas
A > Resistencia o < Conductancia	Hay un elevado déficit de presión parcial de vapor de agua.

Fuente: (Squeo y León, 2007).

2.17 Acumulación de Ácidos Orgánicos.

Es una medida de la concentración de iones de hidrógeno y se determina con la medición del pH o por la cuantificación de la acidez por titulación, o por adición de una base suficiente álcali de normalidad conocida hasta neutralizar la acidez o llevar el pH al punto neutro (Hernandez, 2005).

La determinación de los cambios en la acidez titulable resultan de apoyo para la diferenciación entre metabolismos fotosintéticos C3 o C4 del CAM, en donde la fluctuación de una masa árida titulable, se debe a la acumulación del ácido málico resultante de la fijación de CO₂ con la participación de fosfoenol-piruvato (PEP) y de la enzima fosfoenol-piruvato carboxilasa (PEPC), que resulta en una variación diurna extrema en el contenido de ácido de los cladodios en el caso de las plantas CAM (Ting, 1985; Rodríguez y Cantwell, 1988).

La (Figura 12) representa la variación de la acidez titulable en una planta CAM, en donde se presenta en porcentaje el valor cuantificado de ácido málico presente en extractos de hojas de *Furcraea macrophylla* y *Furcraea castilla* obtenidos durante el transcurso del día, en relación con el promedio de las mediciones registradas (Casierra y González, 2009).

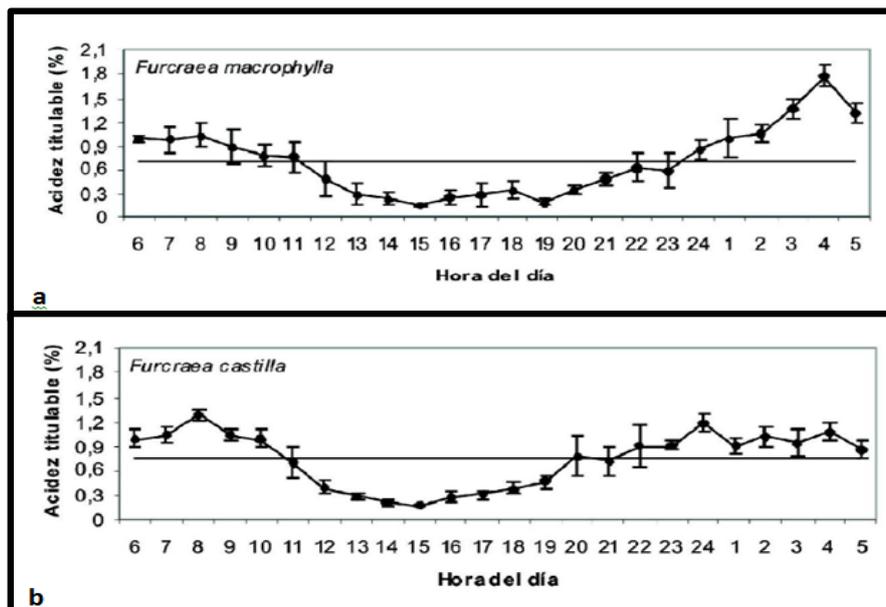


Figura 12. Cambio circadiano de acidez titulable en la savia de a).- fique (*Furcraea macrophylla*) y b).- fique (*Furcraea castilla*).

Acevedo *et al.*, (1985) estudiaron el metabolismo fotosintético de *Prosopis tamarugo* midiendo la evolución diaria del comportamiento estomático y la acidez titulable de las hojas en tejido fotosintético de hojas de tamarugo a) bajo condiciones naturales en Refresco, Pampa del Tamarugal para dos fechas de muestreo durante el mes de diciembre de 1982 y b) bajo condiciones de invernadero en Santiago de Chile para niveles de potencial del agua del suelo

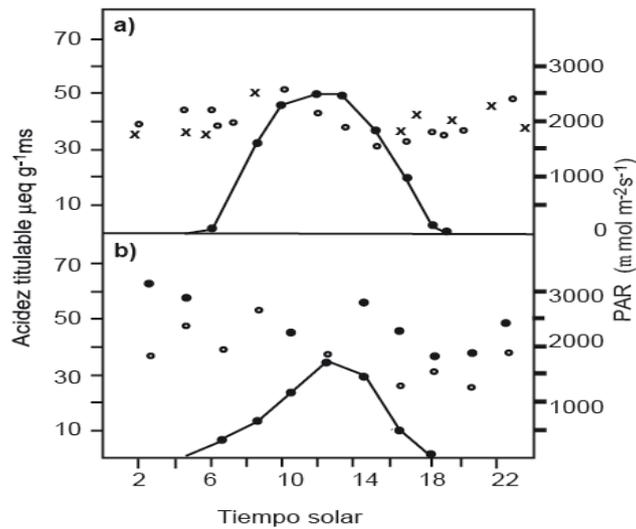


Figura 13. Relaciones hídricas de *Prosopis Tamarugo* Phil. Uso de isotopos estables. (Sotomayor y Zenteno; 1984).

2.18 Acumulación de Azúcares totales.

Los carbohidratos son compuestos orgánicos constituidos por carbono, hidrogeno y oxigeno que varían desde azúcares simples que contienen de tres a siete átomos de carbono, de las cuales solo las hexosas (azúcares de seis carbonos) y las pentosas (azúcares de cinco carbonos) tienen importancia en el metabolismo fotosintético. En las hojas verdes se une el dióxido de carbono del aire y el agua del suelo, en presencia de la clorofila actúan como catalizadores; ésta a la vez incorporando energía de la luz solar en forma de glucosa (Barry, 1980).

En las plantas de metabolismo C3 la triosa fosfato es la base donde se forman el resto de azúcares (como la fructosa y glucosa), oligosacáridos (como la sacarosa) y polisacáridos (como la celulosa y el almidón) en el ciclo de Calvin (Bueckert, 2013).

Los azúcares formados durante el metabolismo C4 son transportados por los conductos del floema en las nervaduras a toda la planta (García, 2009).

Winter (1985) demostró que en plantas CAM cantidades considerables de carbohidratos son translocados de noche y que el crecimiento de estas plantas se encuentra abastecido por translocación selectiva de azúcares solubles. Estas especies usan polisacáridos (almidón) almacenados en el cloroplasto o hexosas solubles no almacenadas en el cloroplasto, como precursores de la formación del Fosfoenolpirvato (PEP) por glicólisis en la fase nocturna (Geydan y Melgarejo, 2005).

Wieland y Black, 1989, evaluaron la variación de los niveles de glucanos totales y almidón durante un período de 24h en plantas de piña (*Ananas comosus* (L.)), las cuales tiene un Metabolismo Ácido de las Crasuláceas. Las plantas antes de la evaluación fueron aclimatadas durante el día por 15 horas a 30°C y una humedad relativa de 60 a 70%, y durante la noche por 9 horas a una temperatura de 15°C y una humedad relativa de 90%.

Al término de la evaluación se observó que el contenido de almidón como de glucanos totales disminuye durante la noche a partir de las 10:00pm y se mantiene constante hasta las 7:00am, posterior a esta hora durante las primeras etapas del amanecer se observa un incremento de ambos compuestos teniendo los valores más altos durante el período comprendido entre las 4:00pm y 10pm.

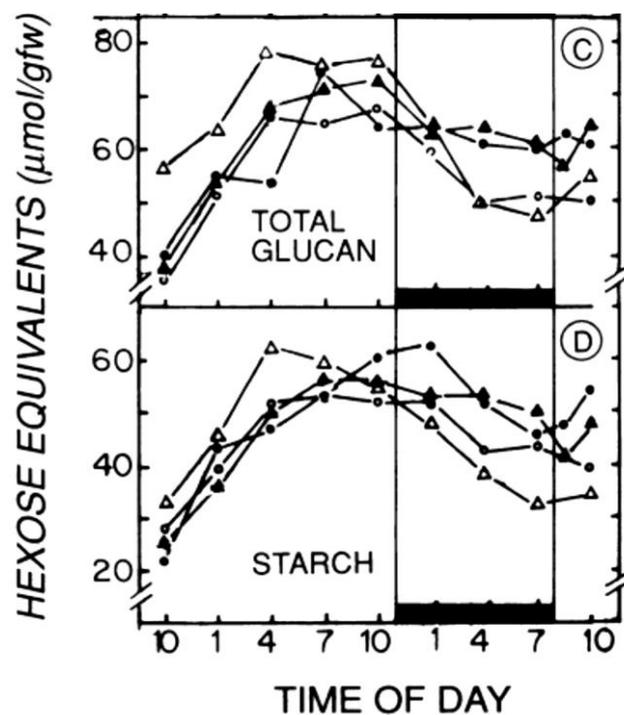


Figura 14. Monitoreo de la variación del contenido de glucanos totales y almidón durante 24h en *Ananas comosus* (L.) (Wieland y Black, 1989).

III.MATERIALES Y METODOS

3.1 Ubicación del experimento.

Este experimento se realizó en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila en el departamento de Horticultura, cuyas coordenadas geográficas son: 25° 22' Latitud Norte, 101° 00' Longitud Oeste, con una altitud de 1760 msnm. El clima de la región es BW_{hw} (x')(e): muy seco, semicálido, con invierno fresco, extremoso, con lluvias en verano y precipitación invernal superior al 10% de la total anual.

3.2 Preparación de la planta.

El experimento se realizó con la renovación de sustrato en la planta de sotol (*Dasyllirion cedrosanum*, Trel.) en contenedores individuales para facilitar el manejo y llevar acabo los muestreos.

La renovación de sustrato se realizó el del 1 al 7 de abril del 2013, primero se seleccionaron las plantas más grandes, posteriormente se llevó acabo la mezcla de los sustratos; dos sacos de perlita y un saco de peat moss dicha mezcla se colocó en macetas de 8 pulgadas, posteriormente se llevó el trasplante y cada maceta se etiqueto del 1 al 72, se hicieron dos bloques de 72 plantas cada uno con 3 repeticiones.

3.3 Riegos.

En las primeras tres semanas posteriores a la renovación de sustrato de las plantas se aplicaron dos riegos por semana con agua de grifo, durante estas tres semanas se aplicó por única vez 5 g de T17 a cada planta. Trascurrido este tiempo, el riego cambio; durante 7 semanas se aplicó un riego por semana con solución Steiner al 25% y un riego adicional con agua de grifo con tres días de separación del riego de solución Steiner. Finalmente, se sometió a estrés hídrico durante dos semanas.

3.4 Muestreo.

Posterior el estrés hídrico se llevó a cabo un muestreo de hoja por hora durante 24 horas, se conservó una hoja en fresco y dos hojas fueron congeladas en nitrógeno líquido y almacenada a -82°C . La muestra fresca fue usada para realizar las determinaciones de Conductancia, Resistencia Estomática y $^{\circ}\text{Brix}$, mientras las muestras congeladas fueron pulverizadas con nitrógeno líquido y usadas para determinar azúcares totales y acidez titulable.

3.5 Conductancia y Resistencia Estomática.

Este se llevó a cabo seleccionando dos hojas de la planta la cual una fue para medir el haz y la otra para el envés, posteriormente se introdujo a la pinza del porómetro marca DECAGON modelo SC-1, que incorpora una cámara con un recorrido de difusión conocido, se fija a la hoja sin moverlas y a continuación se empieza a medir la presión de vapor entre dos puntos de esta trayectoria, para calcular el flujo y el gradiente con las medidas de presión de vapor y conductancia de difusión conocida.

3.6 Acidez titulable.

Este método se realizó en pesar 1g de muestra en polvo y añadir 10 mL de agua destilada en un vaso de precipitado, se mezcló y se calentó en una parrilla de agitación y calentamiento dejándose 5 minutos calentándose, después dicha mezcla se filtró en un matraz, a la solución filtrada se le agrego 3 gotas de fenolftaleína al 1% en alcohol etanol al 95%, después se tituló con hidróxido de sodio al 0.1 N para poder tomar la lectura.

3.7 Cuantificación de azúcares totales.

El método consistió en pesar 10mg de muestra en polvo y añadir 1000 μL de agua destilada. Tomar 250 μL de la muestra diluida correspondiente, y posteriormente se puso en un baño de hielo un tubo para cada muestra a los que se les agregó 250 μL de fenol al 5% (V/V) y lentamente por las orillas de cada uno de los tubos se agregó por último 1 mL de ácido sulfúrico concentrado, se agitaron y después fueron encubados a ebullición por 5 minutos. Una vez transcurrido los 5 minutos se dejaron enfriar los tubos a temperatura ambiente y se procedió a leer cada una de las muestras en el espectrofotómetro (Varian UV-Visible) a una longitud de onda de 488 nm. (Dubois *et al.*, 1956).

3.8 Grados Brix.

Este consistió en cortar 6 cm de hoja de la parte más suave de la hoja, se macero y se colocaron dos gotas de savia en el prisma del refractómetro se cubrió con la placa de luz diurna, y posteriormente se llevó acabo la lectura está colocándose el lente enfocable al ojo para poder ver la lectura.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Conductancia Estomática.

En la Figura (15 y 16) se observa durante las primeras horas del amanecer (alrededor de las 6:00 y 7:00h) un incremento en la conductancia estomática tomada tanto en el haz, como en el envés de las hojas de *Dasyllirion cedrosanum*, dichos valores indican la apertura de los estomas. Por otro lado, al iniciar el atardecer (alrededor de las 19:00 y 20:00h) la conductancia estomática disminuye indicando el cierre de los estomas. La apertura de los estomas durante el día es un indicio de que la planta transpira durante las horas de luz, al igual que una planta de metabolismo C3 o C4 (Squeo y León, 2007).

Los valores más altos de conductancia estomática se registraron en el envés de las hojas durante ambos períodos de evaluación de la planta (20, 21 de Junio y 26, 27 de Junio, del 2013).

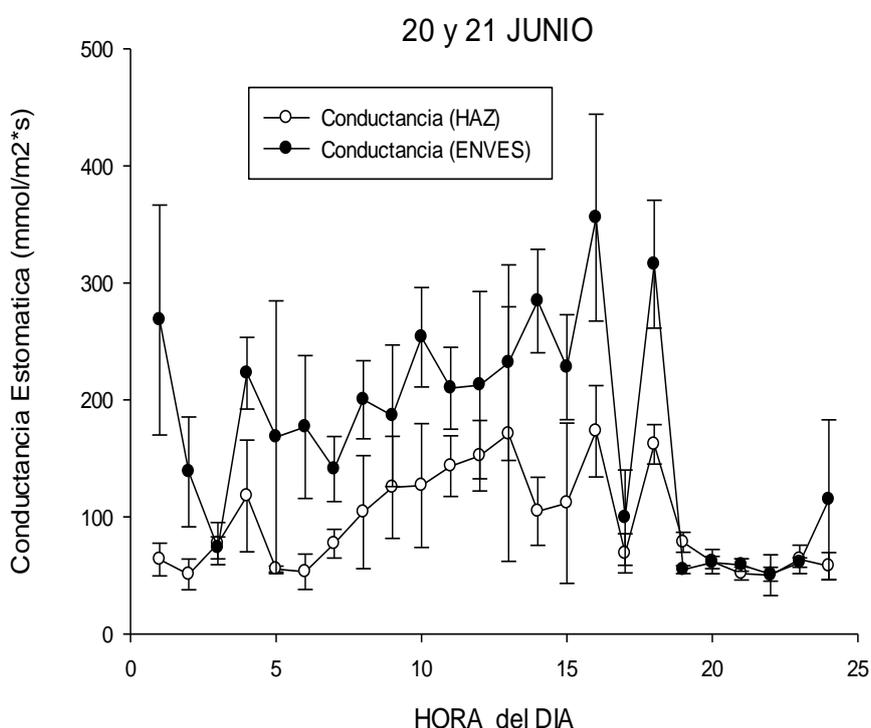


Figura 15. Conductancia estomática evaluada durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de *Dasyllirion cedrosanum*, sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas. Datos de la media y error estándar correspondientes al primer período de evaluación.

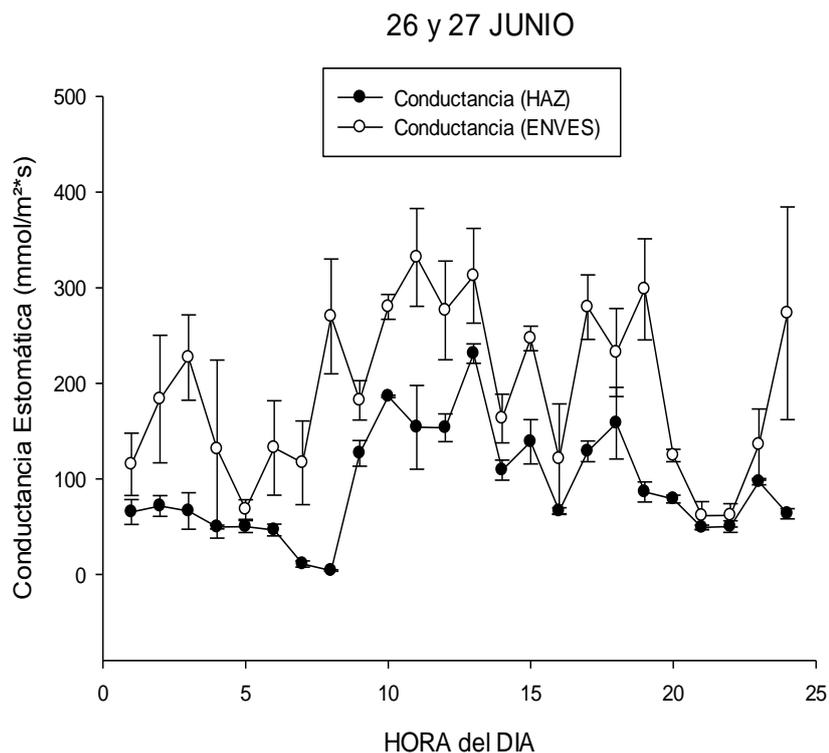


Figura 16. Conductancia estomática evaluada durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de *Dasyilirion cedrosanum*, sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas. Datos de la media y error estándar correspondientes al segundo período de evaluación.

Acevedo, 1985; demostró el metabolismo fotosintético de *Prosopis tamarugo* Phil, una especie leguminosa de metabolismo C3, en base a la evolución diaria del comportamiento estomático bajo condiciones normales de crecimiento y en invernadero bajo condiciones controladas, donde se aplicaron tratamientos de riego no limitante y estrés hídrico. En todas las condiciones evaluadas durante 24h se observó que la especie de *Prosopis tamarugo* abre sus estomas durante las horas de la mañana (alrededor de las 7:00 y 9:00h) cuando la demanda evaporativa de la atmosfera no es tan alta y los niveles de radiación solar son moderados; esto conlleva a un incremento de la conductancia estomática en las hojas de la planta; posteriormente ya iniciando el atardecer la planta cierra nuevamente sus estomas con la consecuente disminución de la conductancia estomática en las hojas (alrededor de las 17:00 y 18:00h). El comportamiento de la conductancia estomática presentada en *Dasyilirion cedrosanum* es parecido al que se presenta en *Prosopis tamarugo*.

Por otro lado, Iñiguez, *et al.*, 2001; evaluaron la conductancia estomática en Chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz), la cual es una planta C3, la evaluación se llevó a cabo durante 24h bajo condiciones de campo. Los resultados que obtuvieron los llevaron a la conclusión de que la conductancia estomática disminuye dramáticamente en las primeras horas de la mañana (alrededor de las 7:00 y 8:00h), afectando directamente a la transpiración y asimilación de CO₂, este cambio podría estar relacionado con la disminución de la temperatura de la hoja, posteriormente cierra los estomas (alrededor de las 17:00 y 18:00h).

Rada, *et al.*, 2005, evaluó bajo periodos de déficit hídrico la conductancia estomática en *Theobroma cacao* var. Guasare, una planta con metabolismo fotosintético C3 observando que a partir de las 9:00h hubo un incremento de este parámetro, mientras que cerca de las 18:00h la conductancia estomática inicia su decrecimiento, lo cual indica que los estomas se encuentran abiertos durante el día y cerrados durante la noche, tal como ocurre con los estomas de *Dasyllirion cedrosanum*.

4.2 Resistencia Estomática.

La resistencia estomática evaluada en la planta *Dasyllirion cedrosanum* mostró un comportamiento contrario de la conductancia estomática a partir de las 19:00h, se observa un incremento de este parámetro, lo que indica el cierre de los estomas, comportamiento característico de plantas con metabolismo C3 y C4; durante las horas del día podemos observar que la resistencia estomática presenta valores más bajos a los que se muestran durante las horas de oscuridad (Figura 17 y 18).

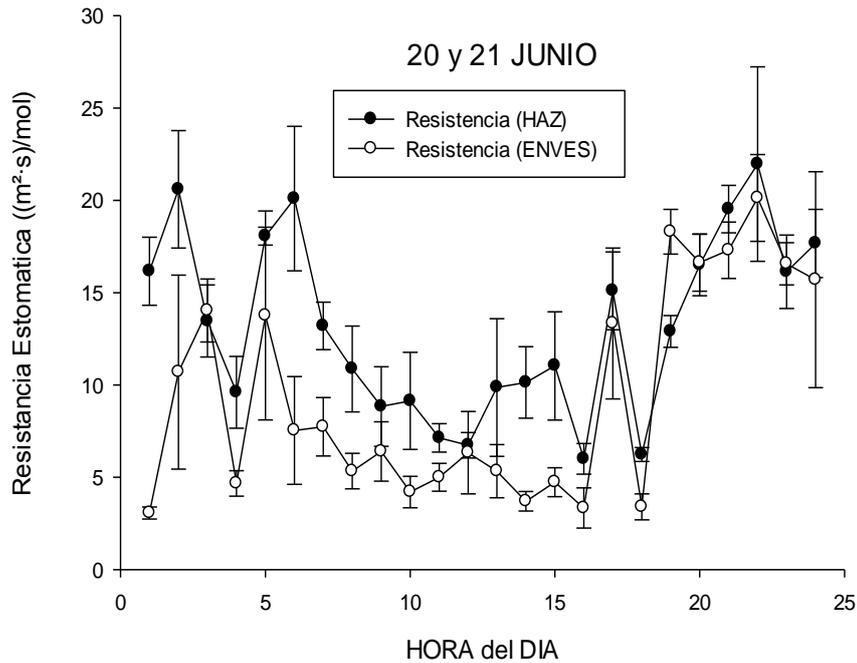


Figura 17. Resistencia estomática evaluada durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de *Dasyllirion cedrosanum* sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas. Datos de la media y error estándar correspondientes al primer período de evaluación.

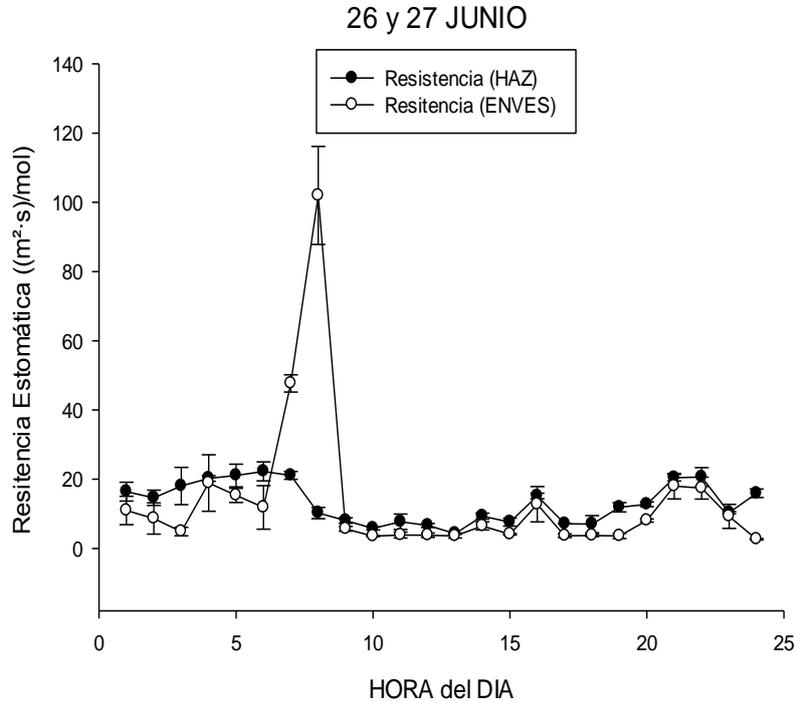


Figura 18. Resistencia estomática evaluada durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de *Dasyllirion cedrosanum* sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas. Datos de la media y error estándar correspondientes al segundo período de evaluación.

Gil, *et al.*, 2006; estudiaron la resistencia estomática como respuesta a un ambiente con y sin déficit hídrico, con y sin acolchado, con y sin sombra y con y sin cobertura plástica en un cultivo de Sábila (*Aloe vera* M), la cual es una planta CAM. Los resultados obtenidos en esta planta muestran que la resistencia estomática se incrementó de forma exponencial entre las 7:00 y las 8:00h, con el aumento de la temperatura del aire y del déficit de presión de vapor, a partir de las 17:00h disminuyó con mayor humedad relativa. El comportamiento del *Aloe vera* es contrario a lo que se observa para *Dasyilirion cedrosanum* por lo cual su comportamiento no es el característico de una planta con Metabolismo Ácido de las Crasuláceas.

Por otro lado, Biscoe *et al.*, 1973, evaluaron la resistencia estomática en *Vicia faba* L. en un periodo de 24h bajo estrés hídrico, y mostraron que este parámetro disminuye alrededor de las 9:00 y 10:00h manteniéndose estable durante el día, y vuelve a incrementar durante el inicio de la noche (alrededor de las 21:00 y 22:00h), lo cual es un comportándose característico de una planta de metabolismo C3, estos resultados son semejantes a los que se muestran en las Figuras 17 y 18, relacionadas con la resistencia estomática de *D. cedrosanum*, lo cual no hace suponer que esta planta se comporta como una C3 o C4.

4.3 Acidez Titulable

El análisis de acidez titulable (Figura 19 y 20) realizado en el extracto obtenido de las hojas de *Dasyilirion cedrosanum* no mostró diferencias entre los valores mostrados durante el día y la noche, que pudieran definir en qué momento ocurre la acumulación de los ácidos orgánicos, como el ácido málico o ácido cítrico.

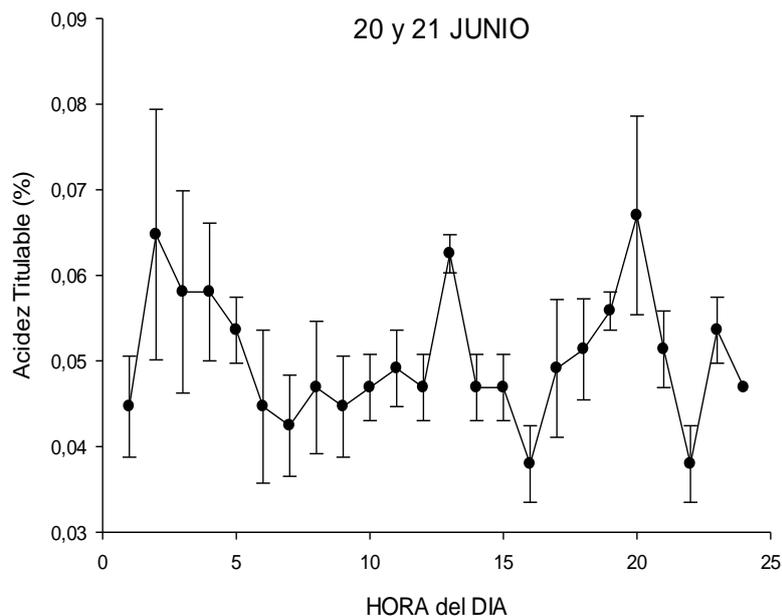


Figura 19. Acidez titulable evaluada durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de *Dasyllirion cedrosanum* sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas. Datos de la media y error estándar correspondientes al primer período de evaluación.

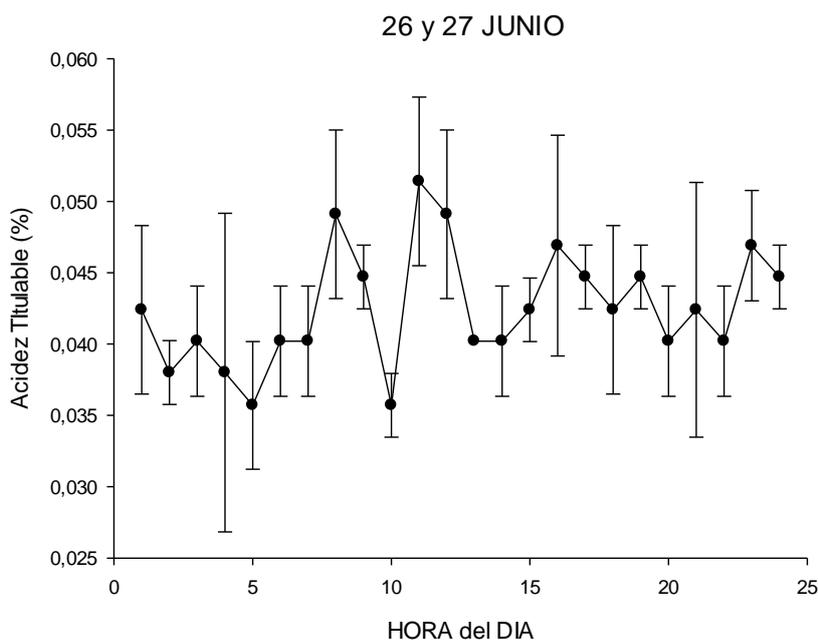


Figura 20. Acidez titulable evaluada durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de *Dasyllirion cedrosanum* sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas. Datos de la media y error estándar correspondientes al segundo período de evaluación.

Acevedo, et al., 1983, reporta un comportamiento similar al obtenido para *Dasyllirion cedrosanum* al medir la acidez titulable en el tejido fotosintético de *Proposis tamarugo* Phil., ya que no observa variación de este parámetro a lo largo del día en condiciones naturales.

Por otro lado, Casierra y González, 2009, cuantificaron la acidez titulable por 24 horas en extracto de hojas de *Furcraea macrophylla* y *Furcraea castilla* durante 24h, y obtuvieron como resultados cambios diurnos (disminución de la acidez) que se manifiestan en plantas con metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) y que son altamente dependientes de la hora del día, sin embargo; las dos especies muestran una disminución en el contenido de ácidos orgánicos presentes en las hojas a partir de las 19:00h con lo que se observa un aumento en la acidez titulable.

Campos, 2012; mostró que en las plantas *Agave salmiana* bajo condiciones de riego presentaron un claro ciclo diurno típico de un comportamiento CAM, con un aumento en la acidez titulable durante la noche (alrededor de las 19:00 y 20:00h), y un decremento durante las horas con luz (alrededor de las 7:00 y 8:00h).

4.4 Acumulación de azúcares totales

La cuantificación de azúcares totales no proporcionó información referente a qué hora ocurre la acumulación de azúcares en la planta ya que no se observa un incremento o decremento durante las 24 h evaluadas consecutivamente (Figura 21 y 22).

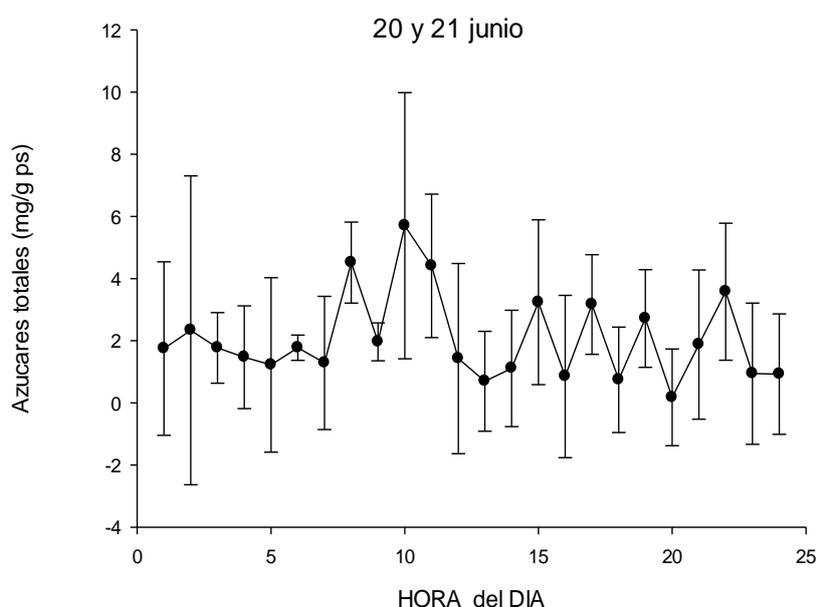


Figura 21. Acumulación de azúcares evaluada durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de *Dasyllirion cedrosanum* sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas. Datos de la media y error estándar correspondientes al primer período de evaluación.

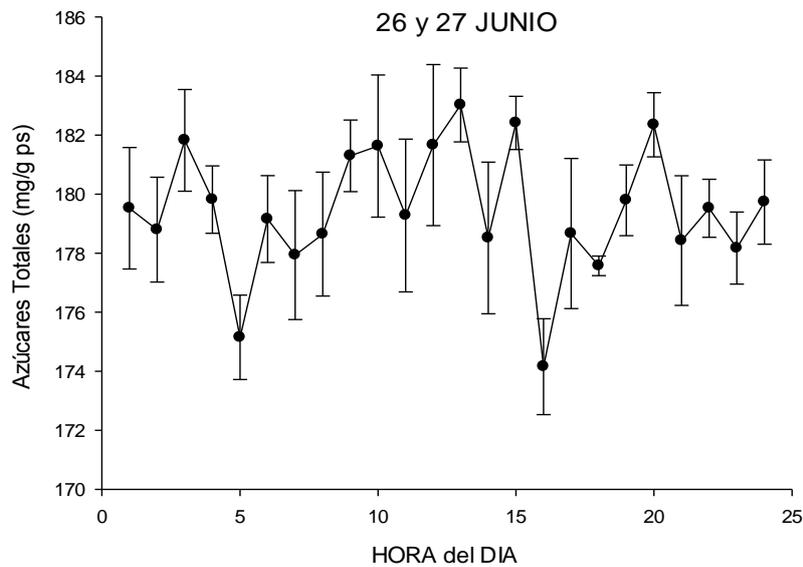


Figura 22. Acumulación de azúcares evaluada durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de *Dasyllirion cedrosanum* sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas. Datos de la media y error estándar correspondientes al segundo período de evaluación.

Wieland y Black, 1989, evaluaron glucanos totales en hojas de piña (*Ananas comosus* (L.)) durante un periodo de 24h cada 3h donde concluyeron que los glucanos totales se comportaron relativamente constante durante las primeras horas del periodo de oscuridad (entre las 17:00 y 18:00h), pero disminuyen dramáticamente alrededor de las 7:00 y 8:00h.

Cheng, *et al*; 1998, evaluaron los niveles de glucosa, fructosa, sacarosa y almidón en plantas de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh, sometidas a un crecimiento en un ambiente con una concentración de 360microlitros de CO₂ (condiciones ambientales) y plantas desarrolladas en concentraciones de 1000microlitros de CO₂ (altas concentraciones de CO₂), en ambos casos el contenido de los azúcares en las plantas fue evaluado durante un periodo de 24h. Las plantas mostraron un incremento de azúcares evaluados durante las primeras horas de la mañana (alrededor de las 8 a las 9h) manteniéndose constante durante todo el día, a excepción de las plantas tratadas con alto CO₂, las cuales presentaron niveles más altos de cada uno de los azúcares, estos sacáridos disminuyeron durante la noche en todos los casos.

4.5 Grados Brix

Las Figuras 23 y 24 muestran un incremento de los °Brix durante el día, lo que es un indicativo de la acumulación de azúcares solubles ocurre durante las horas de luz, mientras durante los períodos de oscuridad se muestra un decrecimiento de dicho parámetro, este comportamiento se observa durante los dos períodos de evaluación (20 y 21 de Junio, 2013, y 26 y 27 de Junio, 2013). Es importante mencionar que el aumento de los azúcares durante el día es reportado tanto para plantas C3 como C4.

En el caso de las plantas CAM, los azúcares tienden a incrementar durante la noche, período en el cual abren sus estomas para absorber CO₂, de esta manera con el CO₂ absorbido son capaces de producir carbohidratos durante el período de oscuridad.

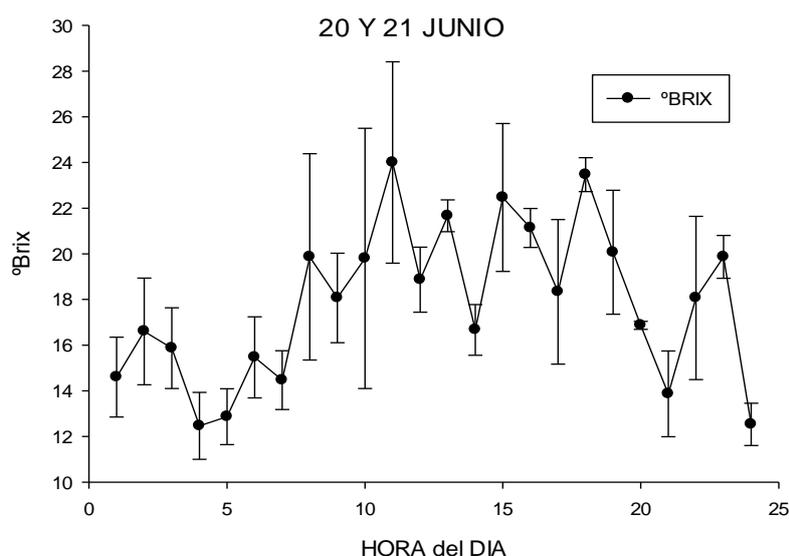


Figura 23. Monitoreo de los °Brix durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de *Dasyliirion cedrosanum* sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas. Datos de la media y error estándar correspondientes al primer período de evaluación.

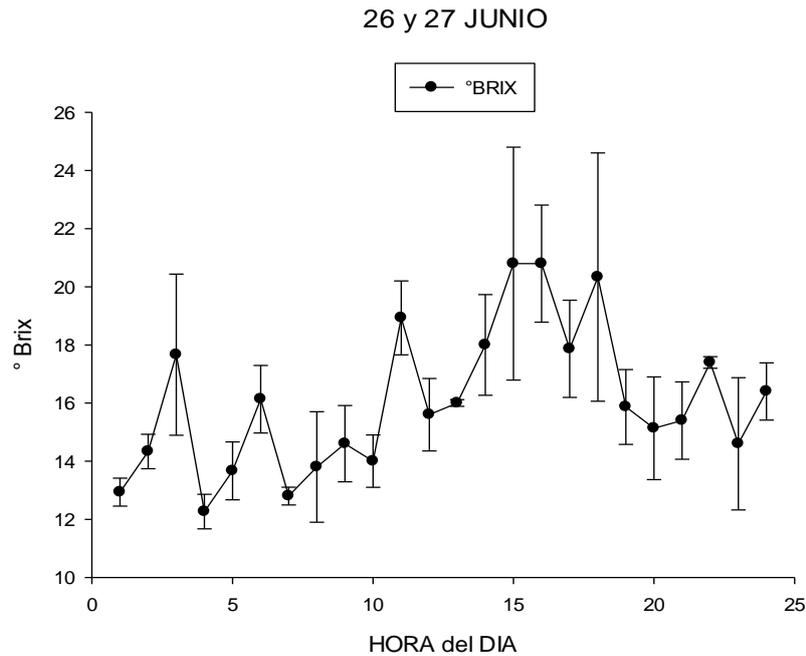


Figura 24. Monitoreo de los °Brix durante 24 horas consecutivas en el haz y envés de hojas de plantas de *Dasyllirion cedrosanum* sometidas a estrés hídrico durante 2 semanas. Datos de la media y error estándar correspondientes al segundo período de evaluación.

Wieland y Black, 1989 evaluaron la concentración de tres azúcares (fructosa, glucosa y sacarosa) y el contenido de azúcares solubles totales en hojas de piña (*Ananas comosus* (L.)), dicha evaluación se llevó a cabo durante un período de 24h. Los resultados obtenidos dieron a conocer que en el atardecer (alrededor de las 16:00 y 17:00h) ocurre un incremento de los tres azúcares analizados durante la noche, dichas concentraciones disminuyen en al llegar las primeras horas de la mañana (alrededor de las 6:00 a las 7:00h), comportamiento que es característico de una planta CAM.

Por otro lado, Kalt *et al.*, 1987, evaluaron el niveles de glucosa, fructosa, glucosa 6-p y fructosa 6-p y almidón en plantas de *Zea mays* que se encontraban bajo condiciones de invernaderos. Las plantas mostraron un aumento de los monosacáridos durante las primeras horas de la mañana (alrededor de las 9:00 y 10:00h), llegando a una máxima durante las horas más calorosas del día y disminuyendo drásticamente en la noche (alrededor de las 20:00 y 21:00h) manteniéndose constante durante el período nocturno.

V. CONCLUSIÓN

El metabolismo fotosintético de *D. cedrosanum* no corresponde al Metabolismo Ácido de las Crasuláceas, debido que los resultados obtenidos de la conductancia estomática, resistencia estomática y °Brix, muestran que la planta presenta un comportamiento característico al metabolismo fotosintético C3 o C4, debido a que se observa un incremento de la conductancia estomática y °Brix durante las horas de luz, y un decremento durante la noche, comportamiento inverso a lo que se observa en la resistencia estomática.

VI. PERSPECTIVAS

Considerando los resultados de esta investigación se propone el análisis de discriminación isotópica del ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$) (indicador del tipo de enzima que cataliza la fijación de CO_2), como una alternativa para definir si es metabolismo C3 o C4, por el cual se efectúa la fotosíntesis en la planta *Dasyllirion cedrosanum* Trel.

VII. LITERATURA CITADA

- Acevedo, E., Aravena, R., Sotomayor, D., Zenteno, V. (1985).** Antecedentes sobre mecanismos de fijación de CO₂ en *Prosopis tamarugo* Phil. En: Estado Actual Sobre el Conocimiento de *Prosopis tamarugo*. Mario Habit (Edición) Arica, Chile. FAO. p. 483.
- Acevedo, E., Ortiz, M., Franck, N., Sanguinetti, P. (2007).** Relaciones hídricas de *Prosopis tamarugo* Phil. Uso de isotopos estables. Serie Ciencias Agronómicas. p. 82.
- Acevedo, E., Sotomayor, D., Zenteno, V. (1983).** Evolución diaria de la acidez titulable en hojas de *Prosopis tamarugo* Phil. Ciencia e Investigación Agraria. 10(2): 193-195.
- Acevedo, E., Sotomayor, D., Zenteno, V. (1985).** Parámetros ambientales y comportamiento hídrico de *Prosopis tamarugo* Phil. en la localidad de Refresco (Pampa del Tamarugal). En: Estado Actual Sobre el Conocimiento de *Prosopis tamarugo*. Mario Habit (Edición) Arica, Chile. FAO. p. 483.
- Agarie, S., Kai, M., Takatsuji, H., Ueno, O. (2002).** Environmental and hormonal regulation of gene expression of C₄ photosynthetic enzymes in the amphibious sedge. *Eleocharis vivipara*. Plant Science. 163: 571-580.
- Bai, Y., Kelly, J. F. (1999).** A study of photosynthetic activities of eight asparagus genotypes under field conditions. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 124(1): 61-66.
- Barry, R. D. (1980).** The U.S.D.A. sugar program. National Food Review. 13(1): 1990.
- Biscoe, P.V., Unsworth, M.H., Pinckney, H.R. (1973).** The effects of low concentrations of sulphur dioxide on stomatal behavior in *Vicia faba*. *New Phytologist*. 72: 1299-1306.
- Black, C.C., Osmond, B. (2003).** Crassulacean acid metabolism photosynthesis: "working the night shift". *Photosynth*. 76: 329-341.
- Bogler, D.J. (1994).** Taxonomy and Phylogeny of *Dasyllirion* (*Nolinaceae*). University of Texas at Austin. p. 582-583
- Bogler, D.J. (1995).** Systematics of *Dasyllirion*: Taxonomy and molecular phylogeny. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 56: 69-76.
- Bogler, D.J. (1998).** *Three New Species of Dasyllirion (Nolinaceae) from México and a Clarification of the D. longissimum Complex*. *Brittonia*. 50(1): 71-86.
- Bueckert, R.A. 2013.** Photosynthetic Carbon Fixation and Crops. *Prairie Soils and Crops Journals*. 6:64-77.
- Caballero, L.A.D. (1983).** Evaluación de diversos parámetros fisiológicos, morfológicos y anatómicos en *Triticum aestivum* L. c. v. Kolibri y su relación con factores ontogénicos y ambientales. Tesis Doctoral. D. José Luis Araus Ortega. P. 5-6, 24-37.

- Campos, G.H. (2012).** Cambios en la fotoquímica, intercambio de gases y crecimiento por estrés hídrico y recuperación de una planta tipo C3 y una CAM. Tesis Doctoral. p. 135.
- Casierra, P.F.; González, D.M. (2009).** Cambio circadiano de pH y acidez titulable en la savia de fique (*Furcraea castilla* y *Furcraea macrophylla*). Orinoquia: 13(1): 5-13.
- Cheng, S., Moore, D.B., Seemann, R.J. (1998).** Effects of Short- and Long-Term Elevated CO₂ on the Expression of Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase Genes and Carbohydrate Accumulation in Leaves of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant Physiology*. 116: 715-123.
- CONAFOR. (2006).** México Forestal, Bosques y Selvas para Siempre. Revista electrónica de la Comisión Nacional Forestal. <http://www.mexicoforestal.gob.mx/nota.php?id=208>.
- Cronquist, A. (1981).** An integrated system of classification of flowering plants. *Botanical Garden*. Columbia University Press, New York. p. 842.
- Cruz, R. J. (2002).** Micropropagación de sotol (*Dasyllirion leiophyllum* Engelm. Ex Trelase): paso de in vitro a in vivo. Tesis de Licenciatura. p. 51.
- Cushman, J.C., Bohnert, H.J. (1997).** Molecular Genetics of Crassulacean Acid Metabolism. *Plant Physiology*. 113: 667-676.
- Cushman, J.C., Borland, A.M. (2002).** Induction of crassulacean acid metabolism by water limitation. *Plant Cell and Environment*. 25: 295-310.
- Da Matta, M.F., Loos, A.R., Rodrigues, R., Barros, S.R. (2001).** Actual and Potential Photosynthetic Rates of Tropical Crop Species. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*. 13(1): 24-32, 2001
- Dahlgren, R.M., Clifford, H.T., Yeo, P.F. (1985).** The families of the monocotyledons. SpringerLink-Verlag, Berlin: 520.
- De las Rivas, J., Balsera, M., Barber, J. (2004).** Evolution of oxygenic photosynthesis: genome-wide analysis of the OEC extrinsic proteins. *Trends in Plant Science*. 9: 18-25.
- Díaz, G.J., Rojas, G., Him de F.N., Hernández B., Torrealba, E., Rodríguez, Z. (2011).** Efecto de la fertilización nitrogenada sobre el crecimiento en vivero de cocuy (*Agave cocui* Trelease). *Revista de Facultad de agronomía LUZ*. 28(1): 264-472.
- Dodd, A.N., Borland, A.M., Haslam, R.P., Griffiths, H., Maxwell, K. (2002).** Crassulacean acid metabolism: plastic, fantastic. *Journal of Experimental Botany* 53: 559-580.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F. (1956).** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 23: 350-356.
- Escalante, C.L., Trejo, C.R., Esquivel, A.O., Arreola, A.J.G., Flores, H.A. (2008).** Comparación de tasas fotosintéticas en algunas plantas cultivadas y malezas. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*. 7: 165-172.
- Escobar, N.U. (2005).** Vistas de estomas de diferentes plantas a través de un microscopio electrónico de barrido. Instituto Tapachula. A.C.

- Ferreire, R., Selles, G., Silva, H., Ahumada, R., Muñoz, I., Muñoz, V. (2006).** Efecto del agua aplicada en las relaciones hídricas y productividad de la vid '*Crimson Seedless*'. Facultad de Ciencias Agronómicas. 41(7): 1109-1118.
- García, C. (2009).** Estructura, funcionamiento y producción de las masas forestales. Un curso teórico-práctico sobre modelización del crecimiento de los bosques y su respuesta a la gestión y al cambio climático. ISBN 978-84-9965-027-2: 1152
- Garuba, T., Abdulrahman, A.A, Olan, G.S., Abdulkareem, K.A., Amadi, J.E. (2014).** Effects of fungal filtrates on seed germination and leaf anatomy of maize seedlings (*Zea mays* L., Poaceae). Journal of Applied Sciences and Environmental Management. 18(4): 662-667.
- Geydan, T.D., Melgarejo, L.M. (2005).** Metabolismo Ácido De Las Crasuláceas. Acta Biológica Colombiana. 10(2): 3-15.
- Gil, M.J.A., Rodríguez, R., Jasso, C.D., Zermeño, A. (2006).** Resistencia estomática, transpiración y potencial hídrico en sábila con diferentes condiciones ambientales. TERRA Latinoamericana. 24(39): 355-365.
- Hatch, M.D. (1987).** C4 Photosynthesis: a unique blend of modified biochemistry, anatomy and ultrastructure. Biochemistry and Biophysics Acta. 895: 81-106.
- Hatch, M.D. (1992).** C4 photosynthesis. An unlikely process full of surprises. Plant Cell Physiol. 33: 333-342.
- Hazarika, N. (2003).** Acclimatization of tissues cultured plants. Current Science 85: 1704-1712.
- Herrera, A. (2009).** Metabolismo ácido de las crasuláceas y fitness bajo estrés déficit de agua: si no fuera por la ganancia de carbono, lo que es facultativa CAM bueno para. Annals of Botany. 103: 645-653.
- Hutchinson, J. (1934).** The families of flowering plantas. Monocotyledons. Clarendon Press, Oxford. p. 532.
- Instituto Mexicano de Protección Industrial. (2002).** www.impi.gob.mx/web/docs/marco_j/sotol.htm (Consultado en Mayo 2009).
- Iñiguez, J.C., Ruiz, P.L. M., Trejo, L.C., García, S.P., Aguirre, M.J.F. (2001).** Regulación del intercambio de gases y relaciones hídricas en chayote (*sechium edule* (jacq.) swartz). Revista Chapingo Serie Horticultura 7(1): 21-35.
- Irmak, S., Mutiibwa, D. 2009.** On the dynamics of stomatal resistance: relationships between stomatal behavior and micrometeorological variables and performance of jarvis-type parameterization. American Society of Agricultural and Biological Engineers. 52(6): 1923-1939.
- Kalt T.W., Kerr, S.P., Usuda, H., Huber C.S. (1987).** Diurnal changes in Maize leaf photosynthesis. *Plant Physiology*. 83: 283-288.
- Lara, M.V., Andreo, C.S. (2005).** Photosynthesis in non typical C4 species. En: Handbook of Photosynthesis. Edition Mohammad Pessaraki. p. 391-421.

- Lara, M.V., Disante, K.B., Podestá, F.E., Andreo, C.S., Drincovich, M.F. (2003).** Induction of a Crassulacean Acid like Metabolism in the C4 succulent plant, *Portulaca oleracea* L.: physiological and morphological changes are accompanied by specific modifications in phosphoenolpyruvate carboxylase. *Photosynthesis Research*. 77: 241-254.
- Lüttge, U. (2004).** Ecofisiología del metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM). *Annals of Botany*. 93: 629-652.
- Marroquín, J.S., Borja, G.L., Velásquez, R.C., De la Cruz, C.J.A. (1981).** Estudio ecológico dasonómico de las zonas áridas del norte de México. México D.F. p. 166.
- Melgosa, C.A.J., Santos, S.T. (2004).** Contribución al conocimiento y distribución de las especies de *Dasyllirion* spp. (Sotol) en Chihuahua México. *Revista Ciencia Forestal*. 29(95): 25-40.
- Monson, R.K., Moore, B.D. (1989).** On the significance of C3 - C4 intermediate photosynthesis to the evolution of C4 photosynthesis. *Plant, Cell and Environment*. 12: 689-699.
- Montenegro, R.L.C., Melgarejo, M.L.M. (2012).** Variación de azúcares totales y azúcares reductores en el musgo *pleurozium schreberi* (hylocomiaceae) bajo condiciones de déficit hídrico. *Acta Biológica Colombiana*. 17(3): 3.
- Mosquera, S.P.L., Riaño, H.N.M., Arcila, P.J., Ponce, D.C.A. (1999).** Fotosíntesis, respiración y fotorrespiración en hojas de café *Coffea* sp. *Cenicafé*, 50(3): 215-221.
- Nelson, N., Yocum C.F. (2006).** Structure and function of photosystem I and II. *Annual Review of Plant Biology*. 57: 521-565.
- Nobel, P.S. (1976).** Water relations and photosynthesis of a Desert CAM plant, *Agave deserti*. *Plant Physiology*. 58: 576-582.
- Nobel, P.S. (1983).** Nutrient levels in cacti-relation to nocturnal acid accumulation and growth. *American Journal of Botany*. 70(8): 1244-1253.
- O'Reilly, S.L., Deneiro, J.M.; Ting, I.P. (1984).** Carbon, Hydrogen, and Oxygen Isotope Ratios of Cellulose from Plants Having Intermediary Photosynthetic Modes. Department of Earth and Space Sciences. *Plant Physiology*. 74: 104-107.
- Olhagaray, E. (1994).** Diagnóstico de la actividad forestal en la Región Lagunera. *Avances de Investigación*. CIFAP-RASPA. p. 22.
- Osborne, C.P., Beerling, D.J. (2006).** Nature's green revolution: the remarkable evolutionary rise of C4 plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 361: 173-194.
- Ozinaldo, A.S.J., Actis, Z.H., Camargo, C.P.R. 2007.** Transpiration and stomatal resistance variations of perennial tropical crops under soil water availability conditions and water deficit. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 50(2): 225-230.
- Parra, R.Q., Becerril, A.E., López, C. (2001).** Transpiración, resistencia estomática y potenciales hídricos en manzano 'golden delicious' injertado sobre portainjertos clonales. *TERRA*. 20: 113-121.

- Pimienta, B.E., Pimienta, E., Nobel, P.S. (2004).** Ecophysiology of the pitayo de Queretaro (*Stenocereus queretaroensis*). *Journal of Arid Environments*. 59: 1-17.
- Poinar, H., Kuch, M., Sobolik, K., Barnes, I., Stankiewicz, A., Kuder, T., Spaulding, W., Bryant, V., Cooper, A., Pääbo, S. (2001).** A molecular analysis of dietary diversity for three archaic Native Americans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 98: 4317–4322.
- Rada, F., Jaimez, R.E., García, N.C., Azocar, A., Ramírez, M.E. (2005).** Relaciones hídricas e intercambio de gases en *Theobroma cacao* var. Guasare bajo periodos de déficit hídrico. *Revista de facultad de agronomía LUZ*. 22: 112-120.
- Robinson, S.P. y Walker, D.A. (1981).** Photosynthetic carbon reduction cycle. En: *The Biochemistry of Plants. A comprehensive treatise*. Academic Press. 8: 193-236.
- Robles, S.B.E., Martínez, R.S.J., Berumen, M.H.E., Huerta, R.B., Estrada, C. E.D., Esparza, A.V., Sánchez, M.C.H., Ramírez, C.V. (2002).** Industrialización y comercialización del sotol. Unidad de Conservación y Desarrollo Forestal (UCODEFO). Zacatecas, México. Número 1. p.39.
- Rodríguez F. A., Cantwell, M. (1988).** Developmental changes in composition and quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos). *Plant Foods for Human Nutrition* 38: 83-93.
- Rubino, P., Tarantino, E., Rega, F. (1989).** Relationship between soil water status and stomatal resistance of tomatoes. *Irrigazione e Drenaggio*. 36: 95-98.
- Sage, R.F. (2002).** Are crassulacean acid metabolism and C4 photosynthesis incompatible?. *Functional Plant Biology*. 29(6): 775-785.
- Sage, R. F., Mckown, A.D. (2006).** Is C4 photosynthesis less phenotypically plastic than C3 photosynthesis?. *Journal of Experimental Botany*. 57(2): 303-317.
- Sage, R. (2004).** The evolution of C4 photosynthesis. *New Phytologist*. 161: 341-370.
- Sayed, O.H. (2001).** *Crassulacean Acid Metabolism 1975-2000, a check list*. *Photosynthetica*. 39(3): 339-352.
- Silva, H., Sagardia, S. Ortiz, M., Franck, N., Opazo, M., Quiroz, M., Baginsky, C., Tapia, C. (2014).** Relationships between leaf anatomy, morphology, and water use efficiency in *Aloe vera* (L) Burm f. as a function of water availability. *Revista Chilena de Historia Natural*. 87: 13.
- Silvera, K., Santiago, L.S., Cushman, J.C., Winter, K. (2009).** *Crassulacean Acid Metabolism and Epiphytism linked to adaptative relations in the Orchidaceae*. *Plant Physiology*. 149: 1838-1847.
- Solarte, C. M. (1992).** Efectos de estrés hídrico en la fisiología y actividades fotoquímicas del frijol. Colegio de Postgraduados. Estado de México. Tesis de maestría. p. 3.

- Sotomayor, D., Zenteno, V. (1984).** Adaptación de la economía de agua en *Prosopis tamarugo* Phil. Tesis de grado: 113. Facultad de Ciencias Agrarias, Veterinarias y Forestales. Universidad de Chile. p. 113.
- Squeo, F. A. y León M. F. (2007).** Fisiología vegetal. Capítulo 3. Transpiración. Universidad de la Serena, La Serena, Chile (Eds). Vol. 3. p. 67-84.
- Standley, P.C. (1920).** Trees and shrubs of Mexico. Washington D.C. Vol. 23. P. 169.
- Taiz, L., Zeiger, E. (2006).** Plant Physiology. Fourth edition. Sinauer Associates, Sunderland, MA. Vol. 1. p. 102.
- Ting, I.P. (1985).** Crassulacean acid metabolism. *Annual Review of Plant Physiology*. 36: 595-622.
- USDA, ARS, National Genetic Resources Program. (2013).** Germplasm Resources Information Network - (GRIN) [Online Database]. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland.
- Van Huylenbroeck, J.M., Debergh, P.C (1996).** Impact of sugar concentration *in vitro* on photosynthesis and carbon metabolism during *ex vitro* acclimatization of *Spathiphyllum* plantlets. *Physiologia Plantarum*. 96(2): 298–304.
- Vázquez, Q.S. (2001).** Combinación y concentración de reguladores de crecimiento para el enraizamiento de sotol (*Dasyllirion leiophyllum* Engelm. Ex Trelase): paso de *in vitro*. Universidad Autónoma de Chihuahua. Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales. Delicias, Chich. Tesis de Licenciatura. p.51.
- Wieland, C.N., Black, C.C. (1989).** Soluble sugars as the Carbohydrate Reserve for CAM in Pineapple Leaves. *Plant Physiology*. 90: 91-100.
- Wilkins, M.B., (1960).** An endogenous rhythm in the rate of carbon dioxide output of *Bryophyllum*. II. The effects of light and darkness on the phase and period of the rhythm. *Journal of Experimental Botany*. 11: 269-288.
- Winter, K. (1985).** Crassulacean Acid Metabolism In: Barber J, Barber NR, Editors. *Photosynthetic Mechanisms and the Environment*. Amsterdam: Elsevier. p. 329-387.
- Zarate, L. A. (2003).** Inventario de las poblaciones y su condición del sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.) en el sur de Coahuila. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Secretaría de Desarrollo Agropecuario, Gobierno del Estado de Coahuila, México.
- Zarinkamar, F. (2006).** Density, size and distribution of stomata in different monocotyledons. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 9(9): 1659-1659.