UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

RESPUESTA FOTOSINTÉTICA DEL NOPAL (*Opuntia ficus-indica*) A FACTORES AMBIENTALES

Por

ROBERTO ESPARZA SANTANA

Tesis presentada como requisito para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS (ÁREA ECOLOGÍA)

LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JALISCO
MAYO DE 2006

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

RESPUESTA FOTOSINTÉTICA DEL NOPAL (*Opuntia ficus-indica*) A FACTORES AMBIENTALES

Tesis presentada como requisito para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
Mayo de 2006

Aprobada por

Dra. Julia Zanudo Hernández Directora de tesis	Recibí 11/05/06 Fecha
Dr. Eulogio Pimienta Barrios Asesor de tesis	11 mayo 2006 Fecha
Dra. Blanca Catalina Ramírez Hernández Sinodal del comité de tesis	11 mayo 2006 Fecha
Dra. Lucila Méndez Morán Sinodal del comité particular	11 Mayo 2006 Fecha
Dr. José de Jesús Sánchez González Sinodal del comité particular	11 - Mayo - 2006 Fecha
Dra. Laura Guzmán Dávalos Coordinadora del Posgrado en Ciencias Biológicas	Mayo 12, 2006 Fecha

Dedico esta tesis a mis padres Maria del Refugio y Cesario, a mi esposa Susana y a mis hijas Andrea, Natali y Susy, por todo lo que significan en mi vida.

A mis hermanas, hermanos y amigos que de alguna forma han sido participes de mi formación.

A mi sobrino Juan Jesús Esparza, con los mejores deseos de salud.

A todas las personas de gran calidad humana que con sus palabras y acciones nos enseñan a ser mejores cada día.

A mis amigos de siempre:
Ingeniero Luis Alfonso de la Cruz Torres y su esposa Tere.
Ingeniero Javier Carranza González y su esposa Pola.

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Ecofisiología vegetal del Departamento de Ecología. División Ciencias Biológicas y Ambientales del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara .

AGRADECIMIENTOS

A mi esposa y mis hijas por ser parte de mi vida y por soportar mis ausencias, faltas y errores.

A la Dra. Julia Zañudo-Hernández por aceptar dirigir esta tesis y por todo el apoyo que me ha brindado.

A el Dr. Eulogio Pimienta por su apoyo y consejos, y por facilitar y permitir que concluyera este trabajo.

A Maria Eugenia González del Castillo Aranda (*MARU*) por su inagotable paciencia y bondad y por haber sido un ejemplo para mis actividades presentes y futuras, además de su apoyo desinteresado.

A la M.C. Verónica Rosas Espinosa (*VERO*) por su ayuda incondicional, a la Dra. Lucila Méndez Morán, a la Dra. Blanca Catalina Ramírez, al Dr. J. De Jesús Sánchez Gonzáles y a todos los académicos que de alguna forma estuvieron involucrados en el desarrollo y/o conclusión de esta tesis.

A mis padres, hermanas y hermanos por que he recibido de ellos a largo de mi vida todos los apoyos en todos los sentidos, por nada a cambio, siempre.

A todas las personas que de una u otra forma colaboraron en la realización de este trabajo y lo hicieron posible.

Al Dr. Martín Huerta Martínez por agilizar todos los tramites requeridos y por su apoyo para los mismos, a la Señora Esther, al Dr. Enrique Pimienta y todas las personas de el área administrativa que apoyaron esta tesis.

A la Sra. Lucía Pérez y al Sr. Sergio Zambrano por su apoyo moral y su confianza y por haberme permitido ser parte de su familia, lo que sin duda ha sido significativo en la conclusión de esta obra.

A aquellas personas que con su amistad y ejemplo han estimulado mi desarrollo personal.

RESUMEN

El nopal (*Opuntia ficus-indica*) probablemente es la cactácea de mayor importancia económica en el mundo, ya que de ella se utilizan tanto los tallos (cladodios) para forraje de animales y alimento humano, como sus frutos (Kiesling, 1999). Hasta 1994 alrededor del mundo se destinaban cerca de un millón de hectáreas al cultivo del nopal (Nobel, 1995). En México, ha sido cultivada por varios siglos, principalmente como alimento humano por sus tallos y frutos (Nobel, 1995).

Esta especie, se ha desarrollado en ambientes donde las noches son relativamente frías y las temperaturas diurnas moderadas, y en regiones donde se presentan grandes variaciones en la disponibilidad de agua debido a los largos periodos de sequía (Pimienta-Barrios y Nobel, 1994). El nopal como todas las cactáceas y otras suculentas de ambientes áridos y semiáridos con periodos inconstantes de disponibilidad de agua, utilizan el metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM). Generalmente la fijación de CO_2 por los cladodios de nopal es más alta cuando existe disponibilidad de agua en el suelo, la temperatura diurna y nocturna son moderadas (25°C/15°C día/noche) y el flujo diario de fotones absorbidos por los pigmentos fotosintéticos es el máximo para la especie en ese hábitat (Nobel, 1995). Sin embargo, el metabolismo CAM se puede dividir en cuatro fases, las cuales están íntimamente vinculadas con el ambiente y pueden ser perturbadas por la temperatura, el nivel de luz y la condición hídrica de la planta (Pimienta-Barrios et al., 2003).

Este estudio se llevó a cabo con el objetivo de evaluar la respuesta fotosintética del nopal a las variaciones estacionales de los factores ambientales (i.e. temperatura, humedad relativa e irradianza), bajo la hipótesis de que las fases del metabolismo fotosintético de *Opunita ficus-indica* son afectadas cuando varían las condiciones climáticas. Los resultados muestran que existe variación considerable cuando la temperatura y la humedad relativa son extremas. La asimilación de CO_2 presenta incrementos cuando la temperatura se mantuvo cercana a 24/10 °C día/noche, el porcentaje promedio de humedad relativa entre

50 y 65 % y el FFF es bajo. Las tasas máximas de asimilación ocurren cuando la humedad relativa es mayor 60% pero, bajo estas proporciones de humedad los promedios mensuales de asimilación descienden. La asimilación de CO_2 más baja registrada - significativamente diferente al resto de las fechas -, ocurrió en la época de mayor precipitación (alta humedad relativa).

Así como en otras especies CAM y estudios similares con *O. ficus-indica*, las tasas de asimilación de CO_2 encontradas en este, son relativamente bajas con respecto a especies C_3 y C_4 . Nuestros registros más altos de asimilación de CO_2 ocurrieron en dos fechas muy distantes entre si, con grandes diferencias de temperatura pero algo similares en cuanto a humedad relativa y disponibilidad de luz. Mientras que, los dos registros más bajos ocurrieron en fechas con mayor similitud en humedad relativa y temperatura, y poca similitud en cuanto a disponibilidad de luz. La fase I , caracterizada por mayor captura de CO_2, presenta en febrero, mayo, junio y diciembre asimilación promedio significativamente mayor al resto y resultados similares en las fases II, III y IV .

ABSTRACT

The cactus pear probably is the most important Cactaceae economic in the world, such as the stems (cladodes) are the food for animals and the fruits for humans (Kiesling, 1999). Since 1994 thought the world was designated almost one million of hectares for the growing of cactus (Nobel, 1995). In Mexico, has been growing for several centuries, principally for food as such young cladodes ("nopalitos") and prickly pear for humans (Nobel, 1995).

This specie, grow in environments were the night temperatures are relative low and day temperatures are moderates, and regions that present high availability variations of the water owing to the long dry periods (Pimienta-Barrios y Nobel, 1994). The cactus pear as all the cactaceas and other succulents of arid and semiarid environments with inconstant periods of availability of water, uses the crassulacean acid metabolism (CAM). Generally, the CO_2 uptake by the cladodes is higher when exist higher soil water content, both day and night temperatures are moderates (25°C/15°C day/ night time) and the photosynthetic photons flow absorbents by the photosynthetic pigments is higher for the specie in the habitat (Nobel, 1995). Notwithstanding the CAM phases has relationships with the environment and could be disrupt for the temperature, light level and water conditions of the plant (Pimienta-Barrios et al., 2003).

This work was realized with the objective to evaluate the photosynthetic responds of cactus pear to the season's variations of the environment factors (e.g. temperature, relative humidity and irradiance). The hypothesis was that CAM phases on *Opuntia ficus-indica* are affected with the change of the climatic conditions. The results show that exist considerable variations when both temperature and relative humidity are extreme. The assimilation of CO_2 increased when the temperature is between 10 to 24 °C, and the relative humidity is higher than 40%, as well as when the irradiance is lower. The lowest average CO_2 uptake, was significantly different to the rest of dates and occurred in the rainy

season (high relative humidity), but the highest CO_2 uptake rates were those when the relative humidity overcome 60%.

As well as in other CAM species and studies with *O. ficus-indica*, the CO_2 uptake rates we find here, are relatively low with respect to C_3 and C_4 species. Our two higher CO_2 assimilation data occurred in some distant dates, with great differences in temperature but some similar in relative humidity and FFF (irradiance). While the two lower, occurred when the relative humidity and temperature are some similar between it, but less similar in irradiance. Phase I, which is characterized for greatest CO_2 assimilation, shows in february, may, june, and december means CO_2 uptake, significantly higher to the rest dates and similar results in the other phases.

INDICE DE CONTENIDO

	Pagina
RESUMEN	i
ABSTRACT	iii
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	3
Generalidades sobre el género *Opuntia*	3
Importancia ecológica y economía del nopal	3
El mecanismo fotosintético CAM y *Opuntia ficus-indica*	4
Fases del metabolismo CAM	6
Suculencia de las plantas CAM	6
Respuesta fisiológica a factores ambientales	7
Conductancia	9
MATERIALES Y MÉTODOS	11
Descripción del sitio de estudio y establecimiento del experimento	11
Variables ambientales	12
Medición de intercambio de gases	12
Análisis estadístico	13
RESULTADOS	13
Condiciones climáticas y ambientales	13
Asimilación de CO_2	16
DISCUSIÓN	32
CONCLUSIONES	37
BIBLIOGRAFÍA	38

INDICE DE FIGURAS

Pagina.

Figura 1. Promedios mensuales de temperatura mínima (Δ) y máxima (o), precipitación pluvial (barras) (a), humedad relativa (b) y flujo fotosintético de fotones (c). 15

Figura 2. Asimilación neta de CO_2 durante 24 h en plantas de *Opuntia ficus-indica*. Febrero (a), mayo (b), junio (c), julio (d) agosto (e), octubre (f), diciembre (g). 17

Figura 3. Relación entre la temperatura y la asimilación neta de CO_2 en *Opuntia ficus-indica.* Febrero (a), mayo (b), junio (c), julio (d) agosto (e), octubre (f), diciembre (g). 20

Figura 4. Relación de asimilación neta de CO_2 con el porcentaje de humedad relativa en *Opuntia ficus-indica.* Febrero (a), mayo (b), junio (c), julio (d) agosto (e), octubre (f), diciembre (g). 22

Figura 5. Relación entre la asimilación neta diaria de CO_2 y la conductancia estomática de CO_2 en *Opuntia ficus-indica.* 23

Figura 6. Relación entre la asimilación neta de CO_2 nocturno y la conductancia estomática de CO_2 nocturno en *Opuntia ficus-indica.* 27

Figura 7. Relación entre la asimilación neta de CO_2 nocturno y el CO_2 intercelular nocturno en *Opuntia ficus-indica.* 28

Figura 8. Relación entre la asimilación neta de CO_2 nocturno y el CO_2 atmosférico nocturno en *O. ficus-indica.* 29

INDICE DE TABLAS

Pagina

Tabla1. Variación estacional en la asimilación neta diaria (And) y tasa máxima de asimilación (Tma) durante 24 h en *O. ficus-indica.* 18

Tabla 2. Promedios mensuales de la conductancia estomática y el CO_2 intercelular en *O. ficus indica.* 24

Tabla 3. Promedios nocturnos de conductancia estomática, asimilación neta de CO_2 y CO_2 intercelular y atmosférico 26

Tabla 4. Asimilación neta de CO_2 durante las fases CAM en respuesta a la variación estacional en diferentes fechas. 31

Tabla 5. Conductancia estomática de CO_2 durante las fases CAM en respuesta a la variación estacional en diferentes fechas. 32

RESPUESTA FOTOSINTÉTICA DEL NOPAL (*Opuntia ficus-indica*) A FACTORES AMBIENTALES

INTRODUCCIÓN

En gran parte del continente americano las cactáceas están representadas por un gran número de géneros y especies, la mayoría están presentes en zonas desérticas y semidesérticas. *Opuntia* es uno de los géneros de más amplia distribución desde Canadá hasta la Patagonia y desde el nivel del mar hasta los 4500 msnm en los Andes. Se encuentran principalmente en zonas de temperatura extrema y sequías prolongadas, comúnmente creciendo en laderas, suelos someros, suelos pedregosos y suelos calcáreos (Granados y Castañeda, 1991).

El nopal (*Opuntia ficus-indica*) es posiblemente la cactácea de mayor importancia económica en el mundo, ya que de ella se utilizan tanto los tallos (cladodios) para forraje de animales y alimento humano, como sus frutos (Kiesling, 1999). Hasta 1994 alrededor del mundo se destinaban cerca de un millón de hectáreas al cultivo del nopal (Nobel, 1995). Además otra utilidad que está siendo desarrollada en Europa y también aplicada en México para esta especie, es el control de la erosión y rehabilitación de suelos (Barbera, 1995; Le Houreou, 1996). En México, ha sido cultivada por varios siglos, principalmente como alimento humano por sus tallos y frutos (Nobel, 1995).

En el sur de Jalisco, México, *O. ficus-indica* como otras cactáceas, presenta menores tasas de asimilación de CO_2 durante la estación lluviosa (en el verano) y durante el otoño e invierno las mayores tasas de asimilación (Pimienta-Barrios et

al., 2000). Esta especie, se ha desarrollado en ambientes donde las noches son relativamente frías y las temperaturas diurnas moderadas, y en regiones donde se presentan grandes variaciones en la disponibilidad de agua debido a los largos periodos de sequía (Pimienta-Barrios y Nobel, 1994). El nopal como todas las cactáceas y otras suculentas de ambientes áridos y semiáridos con periodos inconstantes de disponibilidad de agua, utilizan el metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM), el cual se considera una estrategia de concentración de CO_2 que mejora la eficiencia en el uso del agua. Se ha observado que en condiciones de campo, las especies CAM como *O. ficus-indica, Stenocereus queretaroensis y Agave tequilana* pueden mantener la apertura de estomas y la asimilación de CO_2 por periodos de hasta cinco meses después de finalizado el periodo de lluvias (Pimienta-Barrios et al., 2003). Lo anterior se debe a una característica común entre las plantas CAM denominada suculencia, reconocida como una adaptación morfológica relacionada con la conservación de agua, que presenta baja relación superficie/volumen lo que reduce la cantidad de espacios internos de aire, y a su vez, la conductancia interna de CO_2 (Maxwell et al., 1997). Generalmente la fijación de CO_2 por los cladodios de nopal es más alta cuando existe disponibilidad de agua en el suelo, la temperatura diurna y nocturna son adecuadas (25°C/15°C día/noche) y el flujo diario de fotones absorbidos por los pigmentos fotosintéticos es el máximo para la especie en ese hábitat (Nobel, 1995). El metabolismo CAM se puede dividir en cuatro fases, las cuales están íntimamente vinculadas con el ambiente y pueden ser perturbadas por la temperatura, el nivel de luz y la condición hídrica de la planta (Pimienta-Barrios et al., 2003). El objetivo de este

trabajo es evaluar la respuesta fotosintética del nopal a las variaciones estacionales de los factores ambientales (temperatura, humedad relativa y luz).

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades sobre el género *Opuntia*

O. ficus-indica se encuentra ampliamente distribuida en México como especie cultivada de la cual se consumen tanto sus frutos como sus cladodios. Aunque se cree que es nativa de México, no se encuentra en forma silvestre, se desconoce su origen; pero fue de los primeros nopales llevados a Europa por los conquistadores. Comúnmente se le conoce como nopal de castilla, tuna de castilla y tuna mansa (González et al., 2001).

En Jalisco, debido a la gran diversidad climática que presenta el estado junto con los diversos tipos de suelos, se encuentran al menos diez tipos de vegetación (Rzedowski, 1978), a los cuales se asocian en diferentes proporciones las especies del género *Opuntia*. Este género, se encuentra distribuido en 7 de los 10 tipos de vegetación presentes en el estado, como el bosque tropical caducifolio, bosque tropical subcaducifolio, bosque espinoso, pastizal, matorral xerófilo, bosque de encino, bosque de pino-encino (Villarreal de Puga y Tena, 1992). Siendo común encontrar una misma especie en diferentes tipos de vegetación. Aunque, las especies que tradicionalmente en el estado se han cultivado para consumo humano como verdura y fruto, son principalmente *Opuntia ficus-indica, O. ondulata y O. megacanta* (Arreola-Nava, 1990).

Importancia ecológica y económica del nopal

La familia Cactaceae contiene muchas especies económicamente prometedoras especialmente en el género *Opuntia*. En México este género es usado *in situ* como alimento para animales (los animales lo consumen de la planta viva), forraje (cortado y ofrecido al ganado), fruto y verdura (cladodios jóvenes) para consumo humano. Aunque en general las cactáceas presentan bajas proporciones de proteínas su producción de energía digestible es alta en relación al índice de precipitación pluvial requerido, por lo que su desarrollo en ambientes naturales semiáridos es menos limitado por la disponibilidad de nitrógeno comparativamente a otras especies, y se complementa con especies fijadoras de nitrógeno cohabitantes de estos ambientes como *Leucaena* (Guaje) y *Prosopis* (Guamuchil) (Russell y Felker, 1987). Las cactáceas pueden alcanzar de 4 a 5 veces más eficiencia que las plantas C_4 incluyendo el maíz, en la conversión de agua a materia orgánica (Kluge y Ting, 1978).

Además de la importancia y potencial de uso que el nopal tiene como alimento forrajero, fruto y verdura, se debe tomar en cuenta también su alto valor como organismo equilibrante en los ecosistemas semiáridos del mundo. Durante los temporales de lluvia abundante el nopal secuestra agua y nutrientes minerales para producir carbohidratos y vitaminas, los cuales podrán estar más disponibles económicamente que alimentos alternativos durante la época de estiaje. En los Estados Unidos y más concretamente en el sur del estado de Texas, se ha usado de manera exitosa la especie espinosa *O. lindheimeri* como forraje de bovinos, como un alimento de emergencia, sobre todo cuando los pastos han sido sobrepastoreados o han llegado a la senescencia (Russell y Felker, 1987).

El mecanismo fotosintético CAM

El metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) es una adaptación fotosintética a la disponibilidad limitada de agua o CO_2, así como un importante proceso de fijación de carbono que permite por la noche fijar CO_2 en el citosol, mediante una enzima catalizadora (fosfoenolpiruvato carboxilasa -PEPC-), cuando la temperatura es mas baja y la humedad relativa es mayor. Con lo que se forman ácidos orgánicos (usualmente malato), que son almacenados en las vacuolas de las células del clorenquima. Estos ácidos sufren descarboxilación diurna después de que los estomas se cierran, creando una fuente interna de CO_2 el cual es reasimilado en el cloroplasto por Rubisco (Ribulosa 1,5-bifosfato carboxilasa), una enzima que cataliza de manera irreversible la combinación del CO_2 con un azúcar denominado ribulosa 1,5-bifosfato (RuBP), y que es funcional en todos los organismos fotosintéticos, con excepción de algunas bacterias fotosintéticas (Salisbury y Ross, 1992; Cushman, 1999; 2000; Lawlor, 2001).

Las reacciones bioquímicas básicas del ciclo CAM están contenidas dentro de los cloroplastos, en donde la fijación nocturna primaria de CO_2 en el ácido málico, es separada temporalmente de la incorporación diurna secundaria de CO_2 en los carbohidratos. Lo que consecuentemente hace que la formación y almacenamiento nocturno de malato en la vacuola varíe recíprocamente con la acumulación diurna de carbohidratos (Cushman, 1999). Sin embargo, en algunas especies, la expresión de la ruta CAM es a menudo dependiente de la edad de la planta, aún en plantas CAM obligadas como algunas especies del genero *Kalanchoe*, en las cuales el mecanismo CAM se incrementa con la edad de la hoja y se expresa totalmente solo en hojas maduras (Kluge y Ting, 1978); mientras que

en *Clusia hilariana* se han encontrado tendencias a formar un patrón decreciente de hojas jóvenes a maduras en el grado de suculencia, el grado de expresión del mecanismo CAM, la acidez titulable y otros parámetros (Berg et al., 2004).

Tanto en las plantas C_3, C_4 y CAM, los estomas son la ruta principal para el intercambio de gases, controlan la fijación de CO_2 y la transpiración de la planta. Los movimientos estomatales (cierre y apertura de estomas) son regulados tanto por factores internos como externos, entre los cuales se encuentran la concentración de CO_2, temperatura, luz, humedad relativa, potencial hídrico de la hoja y la radiación fotosintéticamente activa (PAR por sus siglas en ingles). El ciclo CAM se desarrolla en cuatro fases las cuales no se observan de manera clara o definida debido a interacciones complejas entre factores ambientales y del crecimiento vegetal que a menudo alteran u obscurecen ciertas características de cada fase (Roberts, 1997).

Fases del metabolismo CAM

En la fase I – nocturna- , la enzima fosfoenol piruvato carboxilasa (PEPc) fija el CO_2 atmosférico en oxaloacetato (OAA) por carboxilación del fosfoenol piruvato (PEP) proveniente de la glicólisis (desdoblamiento de azúcares). El OAA es reducido a un ácido orgánico (ácido málico) por medio de la enzima NAD(P) malato dehidrogenasa y almacenado en la vacuola.

Fase II, al amanecer se presenta esta fase, en la cual tanto PEPc y Rubisco están activos y el malato se libera de la vacuola, hay carboxilación de la enzima PEPc a Rubisco.

Fase III Durante la mayor parte del día, cuando los estomas están cerrados, ocurre esta fase, inicia la descarboxilación de malato al tiempo que el CO_2 liberado es refijado por Rubisco, generando altas concentraciones de CO_2 internas e incremento en la presión parcial intercelular de CO_2 que promueve el cierre de estomas.

En la fase IV, las reservas de malato se reducen, causando una disminución en la disponibilidad de CO_2 intracelular, lo que se considera un factor endógeno que estimula la apertura de estomas y el consecuente ingreso de CO_2 atmosférico (Cushman y Bohnert, 1999; Maxwell et al., 1999; Pimienta-Barrios et al., 2003, 2005).

Suculencia de las plantas CAM

En *Opuntia ficus-indica*, la fijación nocturna de CO_2 y la acumulación de ácidos así como su proporción están influenciadas por la PAR, aunque este es un factor que varía constantemente debido a la trayectoria de los rayos solares (Nobel y Hartsock, 1983). Las plantas que poseen el metabolismo CAM abren sus estomas por la noche y los cierran durante el día, lo que se considera una estrategia apropiada para absorber CO_2 cuando la transpiración es menor y para retener agua durante el calor del día (Salisbury y Ross, 1992). Como en la mayoría de las cactáceas y suculentas, la suculencia de *O. ficus-indica* se debe a un tejido especializado en almacenamiento de agua -parénquima medular- que en periodos de sequía funciona como reserva hídrica para la planta y que en gran parte da origen a la suculencia, lo que le permite a las plantas con metabolismo ácido mantener inalteradas las funciones metabólicas aún en condiciones

prolongadas de estrés hídrico en el suelo. Durante la sequía, el agua requerida pasa del tejido suculento a la región externa o clorénquima fotosintético que contiene las enzimas del metabolismo CAM (Pimienta-Barrios et al., 2003).

Al igual que plantas C_3 y en menor proporción las C_4, las plantas CAM responden positivamente a los incrementos en la concentración de dióxido de carbono atmosférico, incrementando los volúmenes de captura de CO_2 cuando son expuestas a concentraciones mayores a las normales, como se ha demostrado en algunas plantas suculentas como *Agave deserti* Engelm (Agavaceae) y *Ferocactus acanthodes* Briton y Rose (Cactaceae) (Nobel y Hartsock, 1986)

En las especies vegetales que se han examinado hasta la fecha, el ácido málico es el principal producto de la fijación nocturna de CO_2, aunque pueden ocurrir pequeñas variaciones de otros ácidos. Por el contrario se han observado durante el día una variedad de estrategias para conservar el carbono en forma de carbohidratos, las cuales pueden dividirse en dos grupos principales. Un grupo en el que están especies que almacenan principalmente almidón y glucanos en los cloroplastos (Farrendorft et al., 1987) y otro grupo de especies que almacenan azúcares solubles o polisacáridos en compartimientos extracloroplásticos (Carnal y Black, 1989).

Respuesta fisiológica a factores ambientales

La mayoría de las cactáceas son nativas de ambientes áridos o semiáridos, con temperaturas elevadas y escasa precipitación y donde algunas veces también ocurren heladas, lo que genera en ellas respuestas fisiológicas diversas

relacionadas tanto con el grado de incidencia del factor estresante como con sus mecanismos de respuesta.

Un estrés ambiental significa que parte del potencial hídrico del ambiente difiere del potencial del organismo, así los bajos potenciales hídricos en el exterior de un organismo generan una fuerza conducente para la pérdida de agua y las bajas temperaturas dan lugar a una pérdida de calor (Salisbury y Ross, 1992).

Cuando las plantas terrestres a través de sus raíces absorben menos agua del ambiente que el agua que transpiran por las hojas (evapotranspiración) desarrollan un estado de estrés. El contenido relativo de agua (RWC), el potencial hídrico (ψ) y la turgencia celular decrecen y la concentración de iones y otros solutos en la célula se incrementa reduciendo así el potencial osmótico (Lawlor, 2001). Además del cierre de estomas, los nopales y otras suculentas evitan el estrés hídrico mediante la acumulación de agua en los tejidos donde su potencial hídrico no es tan negativo (-1.0 Mpa en promedio) lo que les permite tomar el agua desde sus tejidos cuando ésta escasea en el suelo (Salisbury y Ross, 1992). Sin embargo, cuando las plantas de *O. ficus-indica* se encuentran en la etapa productiva de cladodios hijos o brotes, estos importan en sus etapas tempranas de desarrollo cantidades significativas de agua, que junto con la transpiración de los cladodios madre agotan las reservas de agua almacenadas en los tallos (Pimienta-Barrios et al., 2005).

Bajo condiciones de estrés hídrico las plantas con metabolismo CAM obligado, superan con amplio margen en cuanto a la capacidad de asimilación de carbono, a sus congéneres con diversos grados de metabolismo CAM facultativo.

En tres especies estudiadas del género *Clusia* con diferente grado de metabolismo CAM, de las cuales *C. rosea* es CAM obligada, se encontró que el estrés por sequía no afecta la cantidad de Rubisco (Borland et al., 1998). Las categorías reflejaron diferencias en las respuestas fisiológicas a la sequía en términos de ganancia neta de carbono; en *C. aripoensis* la ganancia neta de carbono se redujo alrededor de 80% en las plantas estresadas por sequía, mientras que en *C. rosea*, la afectación en ganancia de carbono fue relativamente mínima después de 10 días sin agua. Sin embargo, en el periodo de producción de brotes (nopalitos) y bajo condiciones de estrés hídrico, los cladodios madre de *O. ficus-indica*, reducen significativamente la ganancia de carbono; sobretodo cuando estos desarrollan más de cuatro brotes (Pimienta-Barrios et al., 2005).

Un factor común e importante en las zonas áridas y semiáridas es la presencia de altas concentraciones de sales, aunque también los suelos de regiones templadas están expuestos a este problema. Bajo estas condiciones las plantas deben vencer un potencial osmótico negativo para obtener agua además de sufrir los efectos potencialmente tóxicos propios de las altas concentraciones de sodio, carbonatos y cloro de estos suelos (Salisbury y Ross, 1992).

Algunas cactáceas también crecen en regiones áridas en latitudes muy hacia el norte o altitudes elevadas donde el factor estresante son las heladas que son poco comunes en las zonas semiáridas donde habitualmente se desarrollan las cactáceas. Se ha sugerido que en plantas del género *Opuntia* la presión osmótica en consistencia con el tipo de solutos de bajo peso molecular presentes en el mucílago del parénquima medular, es un factor que determina la resistencia a temperaturas bajo cero, puesto que dichos solutos ayudan a retener

osmóticamente agua líquida dentro de las células, asegurando así la actividad metabólica por periodos mayores de tiempo después de una helada (Goldstein y Nobel, 1994). En el trabajo se incluyó a *O. humifusa* especie que se ha comprobado soporta hasta –24°C (Nobel y Loik, 1990).

Conductancia

En el contexto de difusión de gases, se denomina conductancia al inverso de la resistencia a la difusión (generalmente en μmol $m^{-2}s^{-1}$). En la conductancia estomática la fuerza impulsora del CO_2 hacia el interior de la hoja es la diferencia entre la presión del gas en el interior y la presión de la atmósfera exterior (Salisbury y Ross, 1992).

La conductancia estomática puede variar cuando las hojas se ajustan a los cambios en irradiación, CO_2 atmosférico y humedad relativa. Mientras que, la conductancia de CO_2 de transferencia, que se difunde desde las cavidades subestomáticas a los sitios de carboxilación es aproximadamente constante a lo largo del día (Evans y Caemmerer, 1996).

Aunque las plantas CAM carecen de la anatomía tipo Kranz (corona), requerida para la concentración de CO_2 -mecanismo de las plantas C_4- su mecanismo fotosintético se caracteriza por algunas adaptaciones morfológicas relacionadas con la conservación de agua. La conductancia interna del CO_2 es influenciada por la anatomía de la hoja (Maxwell et al., 1997). Se ha establecido una correlación positiva entre la conductancia interna a la difusión de CO_2 y el área superficial de cloroplastos expuestos al espacio del aire intercelular por unidad de área. Debido a su suculencia y a que las plantas CAM presentan una

baja área superficial respecto de su volumen, la cantidad de espacio de aire dentro de la hoja se reduce. Se especula que la baja conductancia interna en la difusión de CO_2 en plantas CAM es consecuencia de su metabolismo (Smith y Heuer, 1981).

MATERIALES Y METODOS

Descripción del sitio de estudio y establecimiento del experimento

El trabajo se llevó a cabo en el periodo de enero de 1999 a diciembre del año 2000, en el área experimental del Laboratorio de Ecofisiología Vegetal del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara (20° 44' 50" N y 103° 30' 51" O a 1620 m.s.n.m.), bajo condiciones climáticas templado tropicales. La información climatológica requerida en el estudio se obtuvo de una estación meteorológica operada por la Comisión Nacional del Agua ubicada en el parque "Los Colomos" de Zapopan, Jalisco.

Se utilizaron cladodios de *Opuntia ficus-indica* maduros de 12 meses de edad cuya longitud y ancho promedio se encontraban entre 35 cm y 19 cm respectivamente y un grosor promedio de 1.8 cm, los cuales fueron colectados en enero de 1999 de una plantación cultivada en el poblado de Nextipac, Zapopan, Jalisco, México. Se utilizaron 30 plantas, las cuales se plantaron en macetas de 18 L., en una mezcla de suelo de textura media y vermiculita (3:1 v:v). Una vez que desarrollaron raíces, las plantas fueron tratadas con 3 L de solución nutritiva Long Ashton cada semana durante el periodo de estiaje. La brotación de cladodios hijos inició a partir de febrero de 1999 y continuó hasta junio del mismo año. En este mes, los cladodios jóvenes fueron selectivamente eliminados, para dejar tres cladodios en cada planta madre, con el objetivo de homogenizar la población en estudio. El siguiente año (febrero del 2000), cuando los cladodios hijos alcanzaron la edad madura, se inició la etapa de mediciones que se describen a continuación, empleando siete repeticiones para cada variable, seleccionadas al azar.

Medición de intercambio de gases

Para el intercambio de gases (asimilación neta de CO_2, concentración de CO_2 intercelular, conductancia estomática) se tomaron registros cada 2 h por periodos de 24 h, utilizando para ello un equipo portátil para medir fotosíntesis (Li-Cor 6200). A la cámara foliar de un cuarto de litro se le hizo una modificación quitando la parte semicilíndrica, a la parte rectangular se le colocó una lámina plástica dejando una abertura (2cm x 4cm) sellándola con hule espuma, la cual se colocó contra una cara del cladodio presionando firmemente para evitar fugas.

Las fechas en que se llevó a cabo la medición de intercambio de gases fueron cada mes son las siguientes: 11 y 12 de febrero, 26 y 27 de mayo, 7 y 8 de junio, 12 y 13 de julio, 25 y 26 de agosto, 10 y 11 de octubre y, 7 y 8 de diciembre del año 2000.

Variables ambientales

Complementariamente a los datos climáticos, se registraron en las mismas fechas de medición del intercambio de gases las siguientes variables ambientales: flujo fotosintético de fotones (FFF), mediante un sensor cuántico (Li-Cor Li-250 (Li-Cor, Lincoln NE), a longitudes de onda de 400 a 700 nm. La cual se midió cada hora después de salir y antes de ocultarse el sol, integrando. También se registró cada hora la temperatura del aire y del suelo utilizando un termómetro de bulbo y un termómetro digital respectivamente, y la humedad relativa del aire empleando un termómetro digital de humedad (63-101 RadioShack, Los ángeles, CA, USA).

Análisis estadístico

Para probar si existían diferencias mensuales en la asimilación neta así como en la tasa máxima de asimilación se utilizó un Análisis de Varianza (ANDEVA) de una vía, con siete réplicas (Zar, 1999). Cuando se encontraron diferencias significativas entre las medias, se realizaron pruebas de diferencia mínima significativa de Student Newman Keuls (SNK) (Zar, 1999).

Previo al análisis de varianza, se determinó si la variable de respuesta y los residuales presentaron normalidad y homogeneidad de varianzas así como distribución aleatoria del error (Zar, 1999). Los datos son presentados como promedio ± error estandar. Para todas las pruebas se consideró un $\alpha \leq 0.05$.

RESULTADOS

Condiciones climáticas y ambientales

Durante el año de medición, la precipitación pluvial acumulada fue de 1230 mm (figura 1), en el periodo de mayo a octubre el cual típicamente se reconoce como periodo de lluvias. De los cuales el 45% ocurrió en julio, siendo el registro mensual de precipitación pluvial más alto del año. Mientras que en el resto de los meses la precipitación fue nula.

En el periodo de evaluación los registros de temperatura media mensual máxima y mínima mostraron fluctuaciones moderadas, donde mayo fue el mes más cálido, con una temperatura máxima promedio mensual de 30.9 °C y una mínima de 13.5 °C. Los meses de febrero, junio, julio, agosto y octubre presentaron temperaturas con poca variación, tanto en las temperaturas máximas (cercanas a los 26 °C) como en las mínimas (14 °C). Por otra parte diciembre fue el mes más frío con una temperatura promedio mensual máxima de 23.5 °C y una mínima de 5.8 °C (figura 1).

Al inicio de las mediciones en el mes de febrero el promedio mensual de humedad relativa fue del 40%, misma que fue ascendiendo paulatinamente para alcanzar un registro promedio de 77% en el mes de junio, manteniendo valores relativamente constantes hasta el mes de octubre (72% en promedio), y descender de nuevo en el mes de diciembre hasta un promedio de 62% (figura 1).

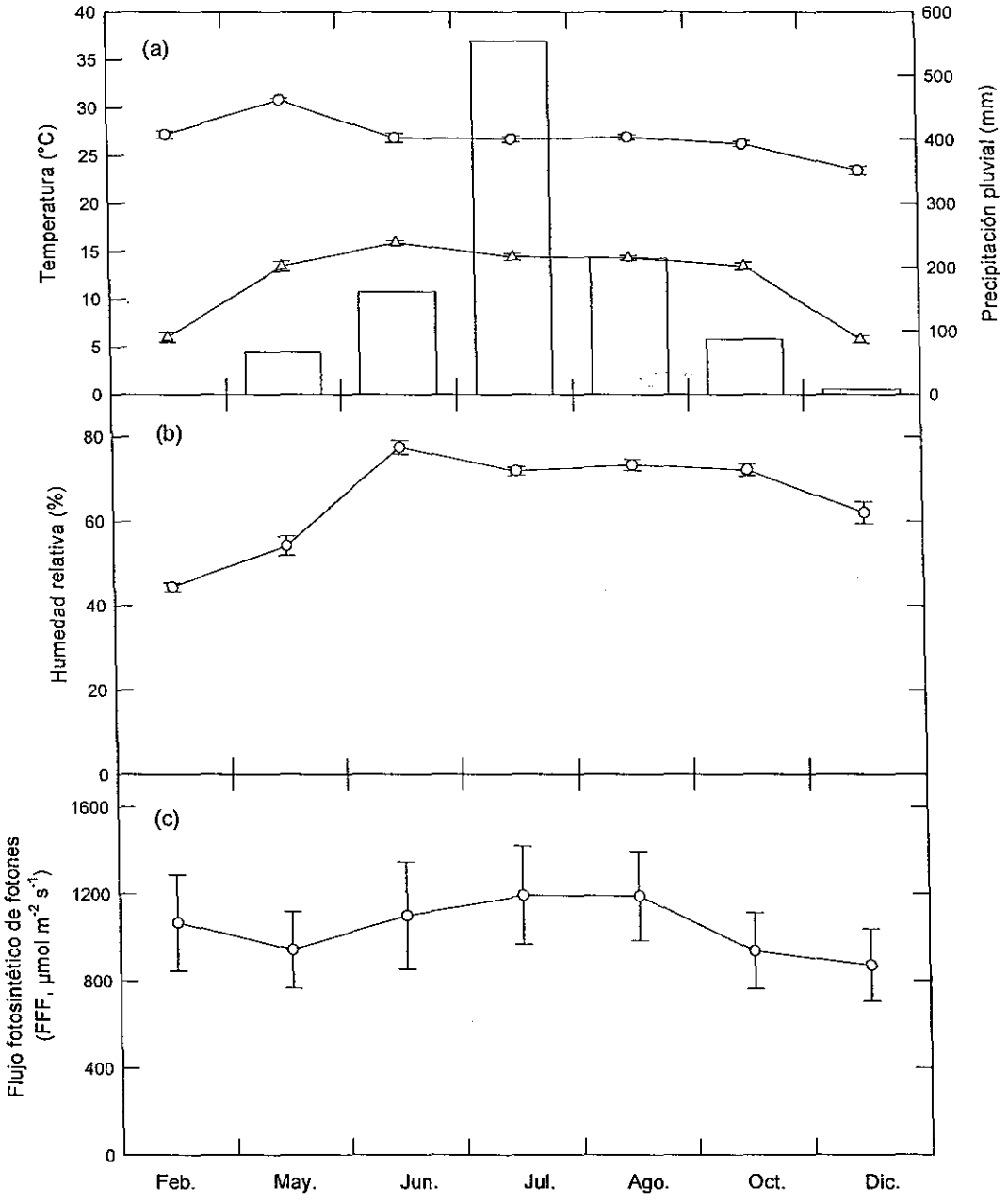

Figura 1. Promedios mensuales de temperatura mínima (Δ) y máxima (O); precipitación pluvial (barras) (a); humedad relativa (b); y flujo fotosintético de fotones (c), en la localidad de Las Agujas, Zapopan, Jalisco durante el 2000. promedios ± el EE (n=30)

Asimilación de CO_2

En el mes de junio se registró una tasa máxima de asimilación de CO_2 de 14.63 µmol m^{-2} s^{-1}, a las 18:00 h, tasa que resultó ser la más alta a lo largo del año (Tabla 1, figura 2), y en los meses de julio, agosto y octubre (4.6, 4.13, 5.03 µmol $m^{-2}s^{-1}$ respectivamente) se presentaron los registros más bajos.

En la mayoría de los meses con excepción de agosto y octubre los registros positivos de asimilación inician alrededor de las 18:00 h y continúan hasta las 8:00 h del día siguiente. En agosto y octubre la asimilación positiva inició a las 20:00 h y continuó hasta las 10:00 h del día siguiente (figura 2).

Al integrar la asimilación positiva y negativa neta diaria de CO_2, se encontraron diferencias significativas entre las fechas de evaluación, presentándose los valores más altos en diciembre (332 mmol m^{-2} d^{-1}), seguido de mayo y junio (296 y 202 mmol m^{-2} s^{-1}). En las tres fechas anteriores también se presentan las tasas más altas de asimilación, de las cuales, le corresponde a junio el valor más alto con 14.6 µmol m^{-2} s^{-1}. Solo en julio y octubre, presentaron valores de asimilación neta diaria de CO_2 significativamente inferiores (64 y 99 mmol m^{-2} d^{-1} respectivamente) (tabla 1).

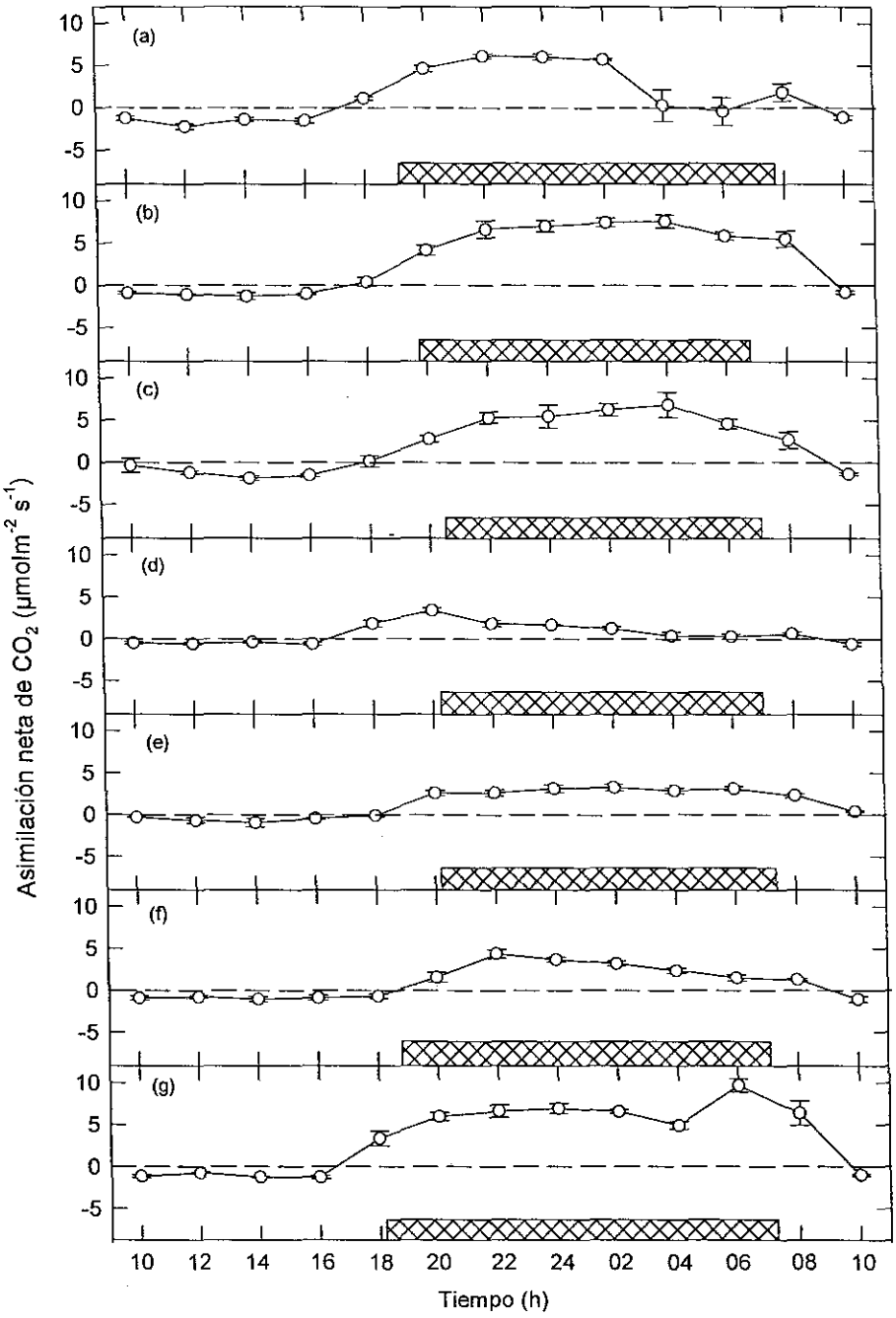

Figura 2. Asimilación neta de CO_2 durante 24 h en plantas de *Opuntia ficus-indica*. Febrero, (a); mayo, (b); junio, (c); julio, (d); agosto, (e); octubre, (f); y diciembre, (g). Los datos son promedios ± EE (n=7)

Tabla1. Variación estacional en la asimilación neta diaria (And) y tasa máxima de asimilación (Tma) durante 24 h en *O. ficus-indica*.

MES	ASIMILACIÓN NETA DIARIA ($mmol\ m^{-2}\ d^{-1}$)	TASA MÁXIMA DE ASIMILACIÓN ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$)
Febrero	122_b	7.4_b
Mayo	296_a	12.1_a
Junio	202_a	14.6_a
Julio	64_c	4.6_b
Agosto	117_b	4.1_b
Octubre	99_c	5.0_b
Diciembre	332_a	12.8_a

Medias dentro de cada columna seguidas por diferente letra son significativamente diferentes, $p < 0.5$ según SNK (n=7).

Aunque la fijación neta de CO_2 en plantas CAM se lleva a cabo en la oscuridad, las variaciones en el Flujo Fotónico Fotosintético (FFF) o irradiación pueden afectar los valores de asimilación, puesto que la luz es uno de los factores que regulan los movimientos estomáticos (apertura y cierre de estomas).

Al comparar los valores de FFF (figura 1) con la asimilación neta de CO_2 (tabla 1) se puede apreciar que en una de las fechas con los valores más bajos de asimilación (julio, 64 $mmol\ m^{-2}\ d^{-1}$) presentó valor alto de FFF (1192 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$).

En mayo se registró un valor de FFF similar a octubre (919 y 937µmol m^{-2} s^{-1} respectivamente), sin embargo mayo fue uno de los meses con mayor asimilación de CO2 . El registro más bajo de FFF se presentó en diciembre (872 µmol m^{-2} s^{-1}) pero fue el más alto en asimilación neta de CO_2.

La mayor parte de los valores positivos de asimilación neta de CO_2, se correlacionaron con temperaturas entre los 13 y 20°C (figura 3).

Una de las fechas con mayor asimilación neta de CO_2 registrada en *O. ficus indica* (mayo, 296 mmol m^{-2} d^{-1}) coincide con el registro también más alto de temperatura promedio mensual (23.5 °C). Sin embargo, el registro de temperatura promedio mensual más bajo se presentó en diciembre, cuando la asimilación neta diaria de CO_2 es la más alta.

En la mayoría de las fechas de evaluación, la ganancia de carbono sólo se registra cuando la temperatura está por debajo de 20 °C y por arriba de 10 °C.

En este trabajo se encontró que la fotosíntesis está altamente correlacionada con la temperatura del aire. Cuando la temperatura del aire supera los 24 °C o está en ascenso constante, se registra un descenso en la asimilación de CO_2; a mayor temperatura menor asimilación. Aunque en algunas fechas (julio, agosto y diciembre), se registraron valores negativos de asimilación con temperaturas cercanas a los 18 y 20 °C. Con excepción de febrero (r^2 = -0.581) y julio (r^2 = - 0.331) en el resto de los meses la temperatura muestra una alta correlación con la asimilación neta de CO_2 (figura 3).

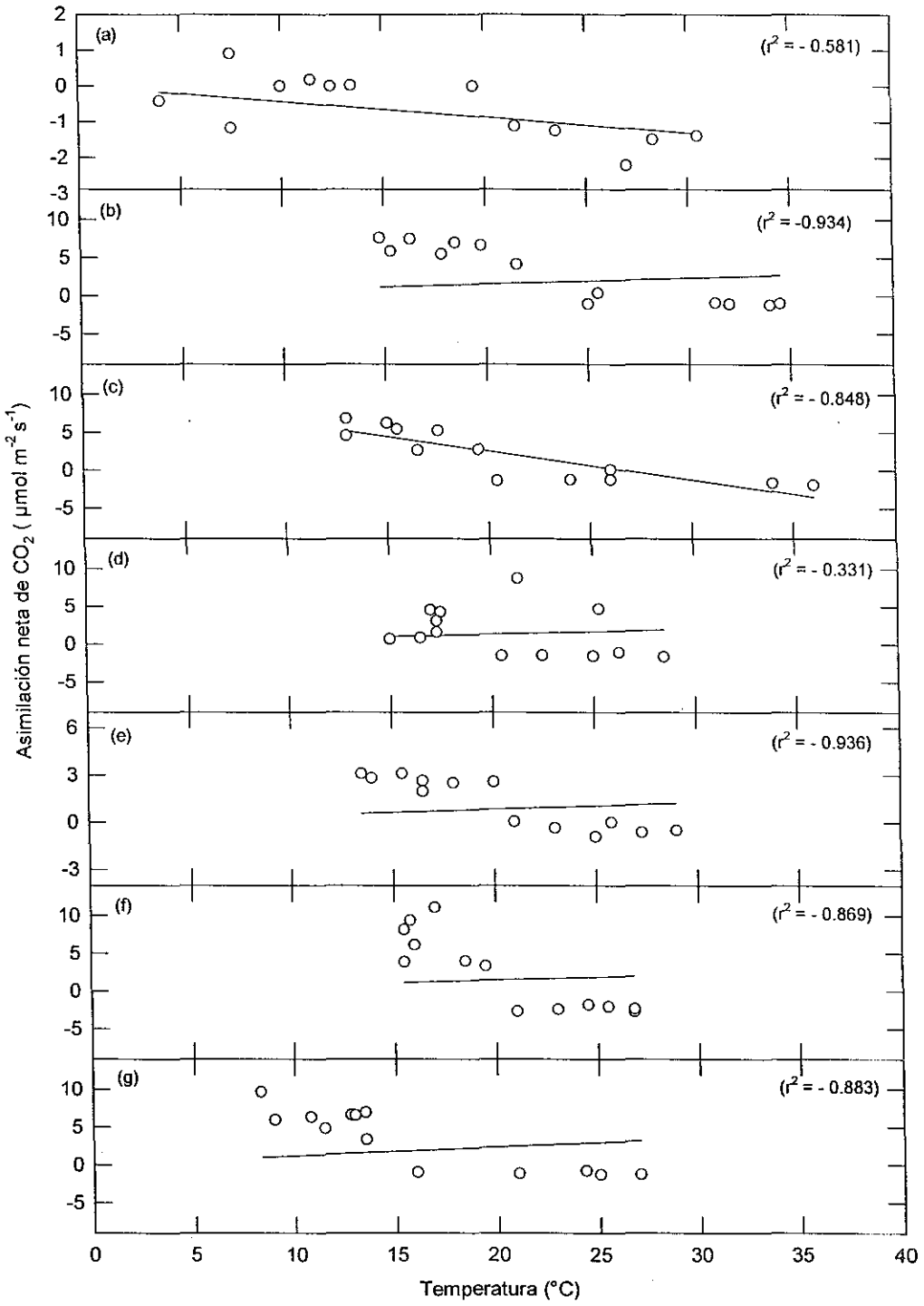

Figura 3. Relación entre la temperatura y la asimilación neta de CO_2 en *Opuntia ficus-indica*. Febrero, (a); mayo, (b); junio,(c); julio, (d); agosto, (e); octubre, (f); diciembre, (g).

El porcentaje de humedad relativa registrado para los diferentes periodos de evaluación presenta promedios mensuales con variaciones del 49 % en mayo al 72 % en julio y agosto. En los meses de mayo, junio, agosto, octubre y diciembre la humedad relativa presenta una alta correlación con la asimilación neta de CO_2 (figura 4).

En febrero se registró baja correlación entre la humedad relativa y la asimilación neta de CO_2. Mientras que julio, con un porcentaje de humedad relativa de los más altos (72%) y el registro mas bajo de asimilación neta de CO_2 (64 mmol m^{-2} s^{-1}) no presentó relación entre ambas variables.

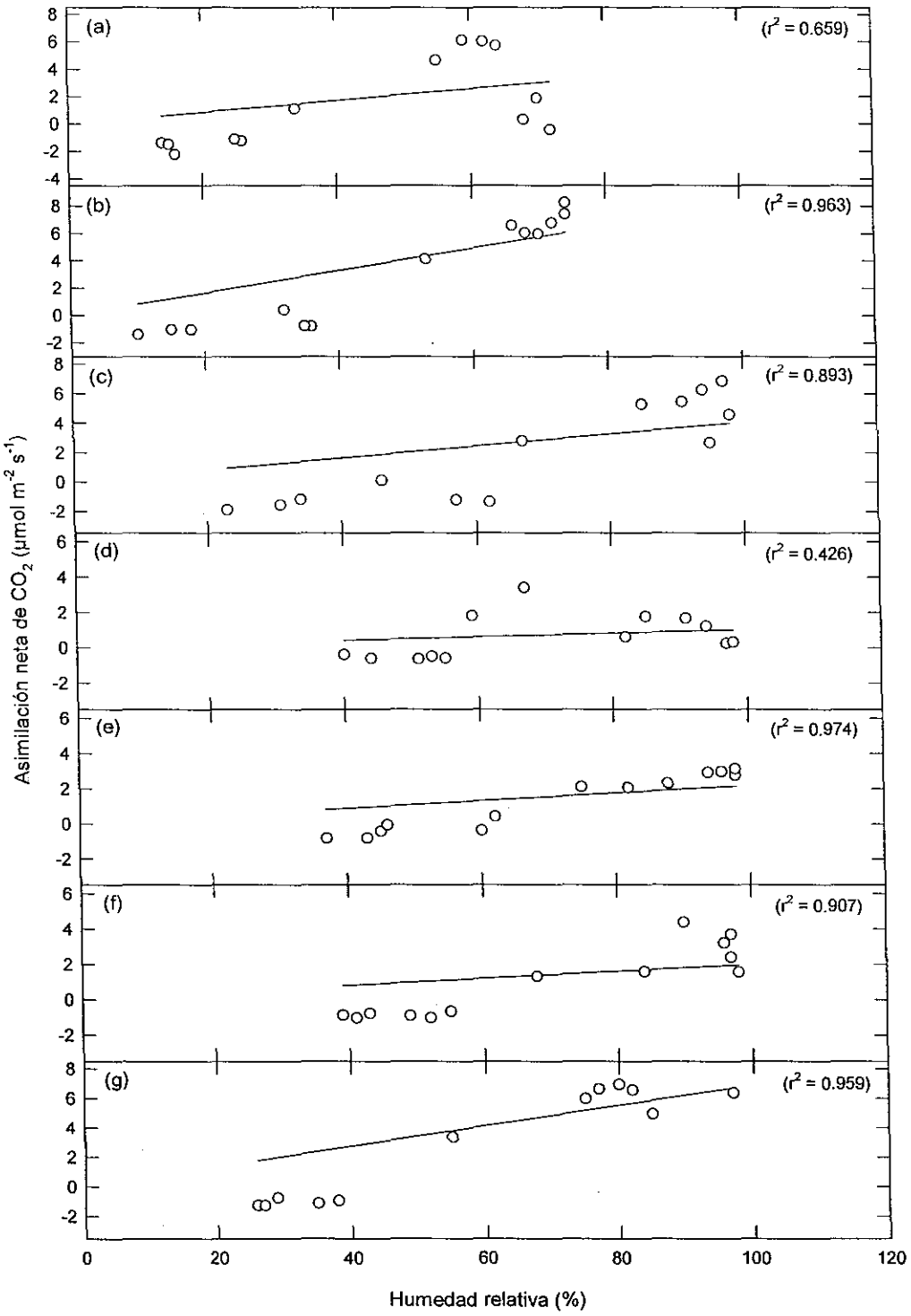

Figura 4. Relación de asimilación neta de CO_2 con el porcentaje de humedad relativa en *Opuntia ficus-indica*. Febrero, (a); mayo, (b); junio, (c); julio, (d); agosto, (e); octubre, (f); diciembre (g).

En la figura 5, se puede apreciar que la asimilación neta de CO_2 y la conductancia estomática de CO_2 no presentaron una correlación significativa, ya que, con valores de conductancia inferiores a 0.3 y mayores a 0.14, la asimilación neta de CO_2 se comportó más bien como una variable independiente de la conductancia, registrando valores tanto positivos como negativos. Aunque la mayoría de valores altos de asimilación neta de CO_2 se registraron entre 0.2 y 0.4 µmol m^{-2} s^{-1} después de que la conductancia fue superior a estos valores también se presentaron valores altos de asimilación neta de CO_2 pero fueron escasos.

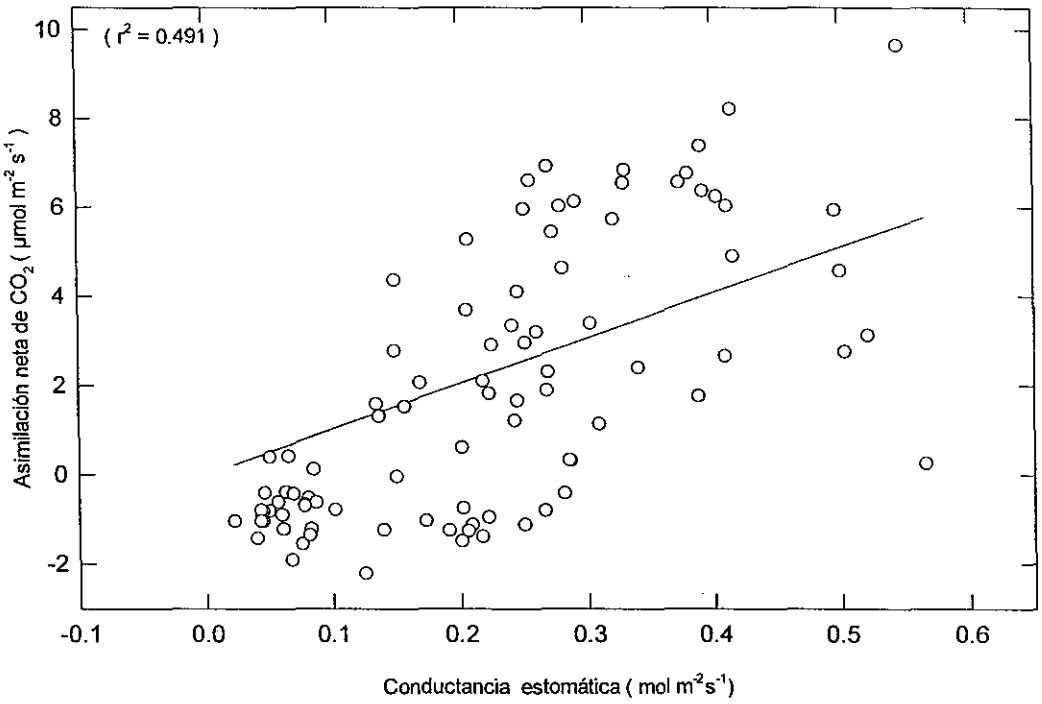

Figura 5. Relación entre la asimilación neta diaria de CO_2 y la conductancia estomática de CO_2 en *Opuntia ficus-indica*.

Al relacionar la asimilación con la conductancia estomática de CO_2, encontramos que todos los valores de asimilación negativa coinciden con valores de conductancia estomática entre 0.02 y 0.28 mol m^{-2} s^{-1}. Y gran parte de estos valores negativos se relacionan con valores de conductancia estomática menores de 0.01 mol m^{-2} s^{-1}. Mientras que, se registraron solo valores positivos de asimilación de CO_2 (ganancia de carbono) a partir de 0.28 mol m^{-2} s^{-1} de conductancia estomática, y de estos los más altos se encontraron cuando la conductancia registró entre 0.2 y 0.4 mol m^{-2} s^{-1} (figura 5).

Tabla 2. Promedios mensuales de la conductancia estomática y el CO_2 intercelular en *O. ficus indica.*

Mes	Conductancia estomática (mol m^{-2} s^{-1})	CO_2 intercelular (µmol mol^{-1})
Febrero	0.925_a	411_a
Mayo	0.936_a	384_a
Junio	0.756_a	325_a
Julio	1.044_a	368_a
Agosto	1.152_a	351_a
Octubre	0.468_b	340_a
Diciembre	1.008_a	351_a

Medias dentro de cada columna seguidas por diferente letra son significativamente diferentes, $p < 0.5$ según SNK (n=7).

Los valores promedio mensuales de conductancia estomática en julio, agosto y diciembre (1.044, 1.152 y 1.008 mol m^{-2} s^{-1} respectivamente) fueron los más altos. No obstante julio y agosto fueron superiores a diciembre, y ambos coincidieron en que la temperatura fue moderada (21 °C y 20.3 °C respectivamente), la humedad relativa fue alta (72%) y la densidad de flujo fotónico se aproximó a 1200 μmol m^{-2} s^{-1} (tabla 2, figura 1).

Los promedios mensuales de asimilación neta de CO_2 en mayo y junio (296 y 202 mmol m^{-2} d^{-1} respectivamente) fueron dos de las tres fechas con registros más altos pero, estos no coincidieron con las fechas en que se registró los promedios mensuales de mayor conductancia estomática (tabla 2). Sin embargo, en mayo, una de las fechas con registro más alto de CO_2 intercelular (384 mol m^{-2} d^{-1}) fue también una de las fechas de mayor asimilación neta de CO_2 , mayor temperatura promedio mensual y menor porcentaje de humedad relativa.

La conductancia estomática registrada en junio y octubre (0.756 y 0.468 mol m^{-2} s^{-1} respectivamente) fueron las más bajas y coincidieron con valores bajos en el flujo fotosintético de fotones (1099 y 937 μmol m^{-2} s^{-1} respectivamente (tabla 1), y a la vez con los valores mas bajos de CO_2 intercelular (325 y 340 mol m^{-2} s^{-1} respectivamente) (tabla2). La temperatura en ambas fechas (21.5 °C y 20.4 °C respectivamente) fue moderada (figura 3) .

Tanto la conductancia estomática nocturna como la asimilación neta de CO_2 nocturna más altas se registraron en mayo y diciembre (1.368, y 1.224 mol m^{-2} s^{-1} y 253 y 318 µmol m^{-2} s^{-1} respectivamente). Mientras que, la conductancia estomática de CO_2 nocturno más baja se registró en octubre (0.720 mol m^{-2} s^{-1}) y el valor más bajo de asimilación neta de CO_2 nocturno (52 mmol m^{-2} s^{-1}) se

registró en julio (tabla 3). También en la tabla 3 se observa que, la fecha en que se registró el valor más alto de CO_2 intercelular nocturno fue febrero (411 µmol mol^{-1}), y el valor más bajo de CO_2 intercelular fue en junio (315 µmol mol^{-1}).

En cuanto al CO_2 atmosférico nocturno, octubre fue la fecha en que se registró el valor más alto y, con excepción de agosto, fue significativamente mayor que el resto. Así mismo, esta fecha coincide con un registro bajo de CO_2 intercelular nocturno, bajo valor de asimilación neta de CO_2 nocturno y menor conductancia estomática de CO_2 .

Tabla 3. Promedios nocturnos de conductancia estomática, asimilación neta de CO_2 y CO_2 intercelular y atmosférico

Mes	Conductancia estomática nocturna (mol m^{-2} s^{-1})	Asimilación neta de CO_2 nocturno (mmol m^{-2} s^{-1})	CO_2 intercelular nocturno (µmol mol^{-1})	CO_2 atmosférico nocturno (mol m^{-2} s^{-1})
FEBRERO	1.044_b	164_c	411_a	318_c
MAYO	1.368_a	253_a	338_c	392_b
JUNIO	1.116_b	206_b	315_d	392_b
JULIO	1.188_b	52_d	380_b	393_b
AGOSTO	1.152_b	103_c	360_b	404_a
OCTUBRE	0.720_c	112_c	340_c	414_a
DICIEMBRE	1.224_b	318_a	337_c	387_b

Medias dentro de cada columna seguidas por diferente letra son significativamente diferentes, $p < 0.5$ según SNK (n=7).

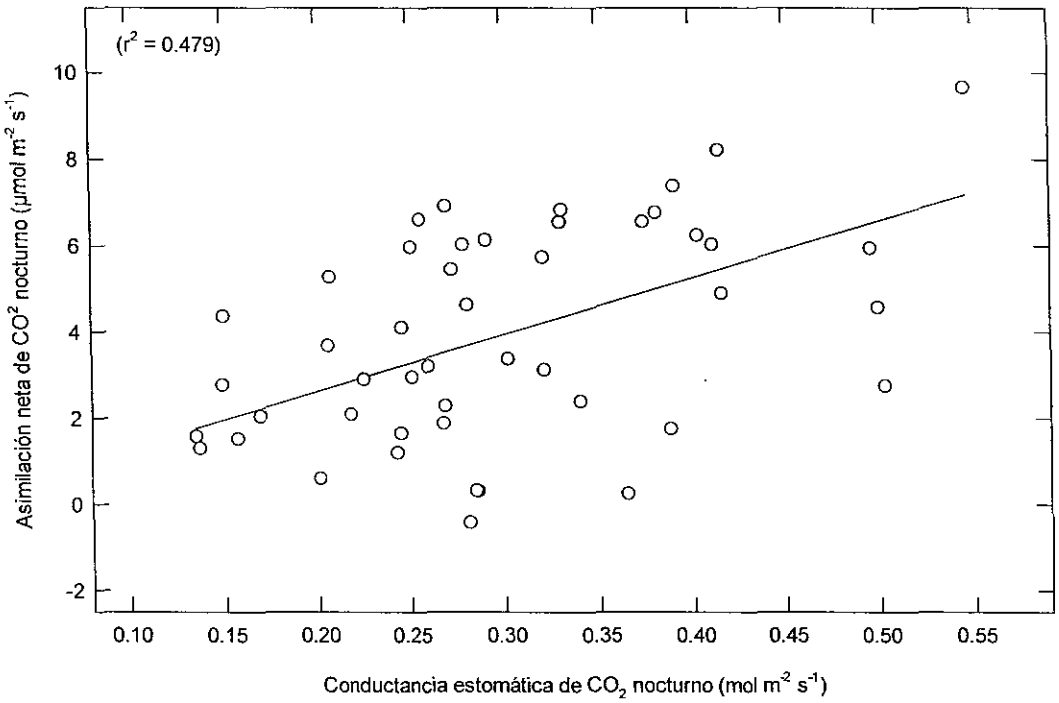

Figura 6. Relación entre la asimilación neta de CO_2 nocturno y la conductancia estomática de CO_2 nocturno en *Opuntia ficus-indica.*

El incremento en la conductancia estomática de CO_2 nocturno, se correlacionó con la asimilación neta de CO_2 nocturno (figura 6). Aunque r^2 = 0.479, se observa que la asimilación nocturna alcanzó valores relativamente altos (superiores a 6 µmol m^{-2} s^{-1}) a partir de 0.25 mol m^{-2} s^{-1} de conductancia. Sin embargo, se apreció una asimilación neta de CO_2 nocturno con valores de conductancia estomática nocturna desde 0.13 hasta 0.55 mol m^{-2} s^{-1}. En la misma figura se puede apreciar, que los valores más altos de asimilación neta de CO_2 nocturno se registraron con una conductancia estomática de CO_2 nocturno de 0.40

a 0.45 mol m^{-2} s^{-1}.

La asimilación neta de CO_2 nocturno presentó una correlación negativa con el CO_2 intercelular nocturno. Los valores altos de asimilación nocturna de CO_2 coincidieron con los valores relativamente bajos de CO_2 intercelular (de 300 a 380 mol m^{-2} s^{-1}). Y el incremento en la concentración de CO_2 intercelular nocturno disminuyó la presencia de valores altos en la asimilación neta de CO_2 nocturna (Fig. 7). Aunque, se observaron registros de asimilación nocturna de CO_2 con valores de 446 µmol mol^{-1} de CO_2 intercelular nocturno.

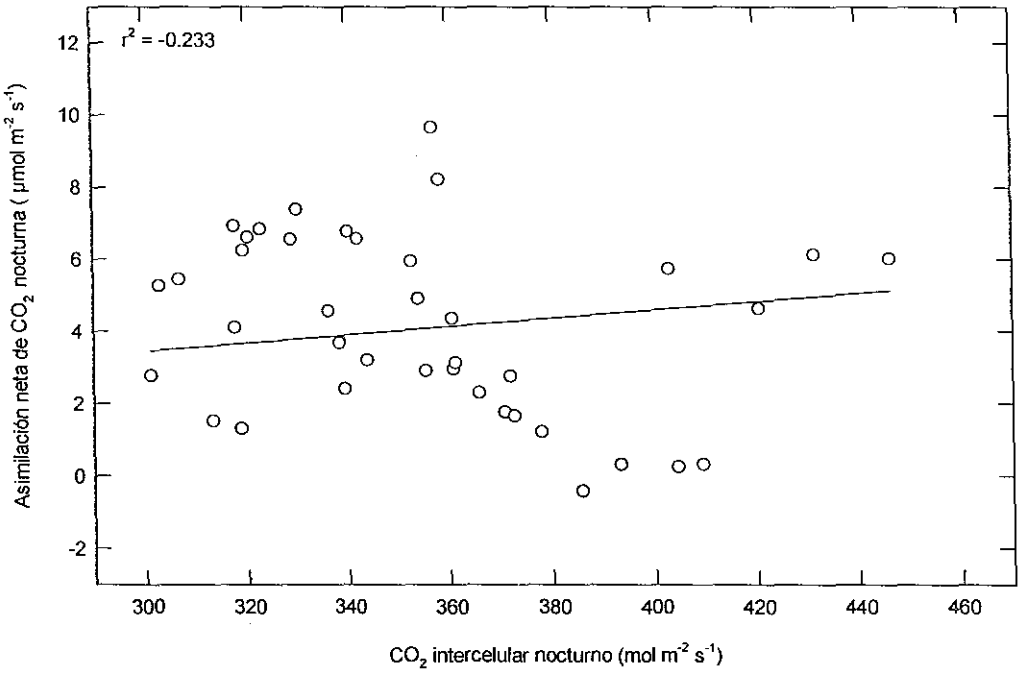

Figura 7. Relación entre la asimilación neta de CO_2 nocturno y el CO_2 intercelular nocturno en *Opuntia ficus-indica*.

La asimilación neta de CO_2 nocturno, presentó relación negativa con el CO_2 atmosférico nocturno (figura 8). Sin embargo, es claro que la mayoría de los registros de asimilación nocturna se dieron con valores de CO_2 atmosférico entre 380 y 420 mol m^{-2} s^{-1}, y que los registros más altos de asimilación nocturna de CO_2 coincidieron con valores de CO_2 atmosférico cercanos a los 400 mol m^{-2} s^{-1}.

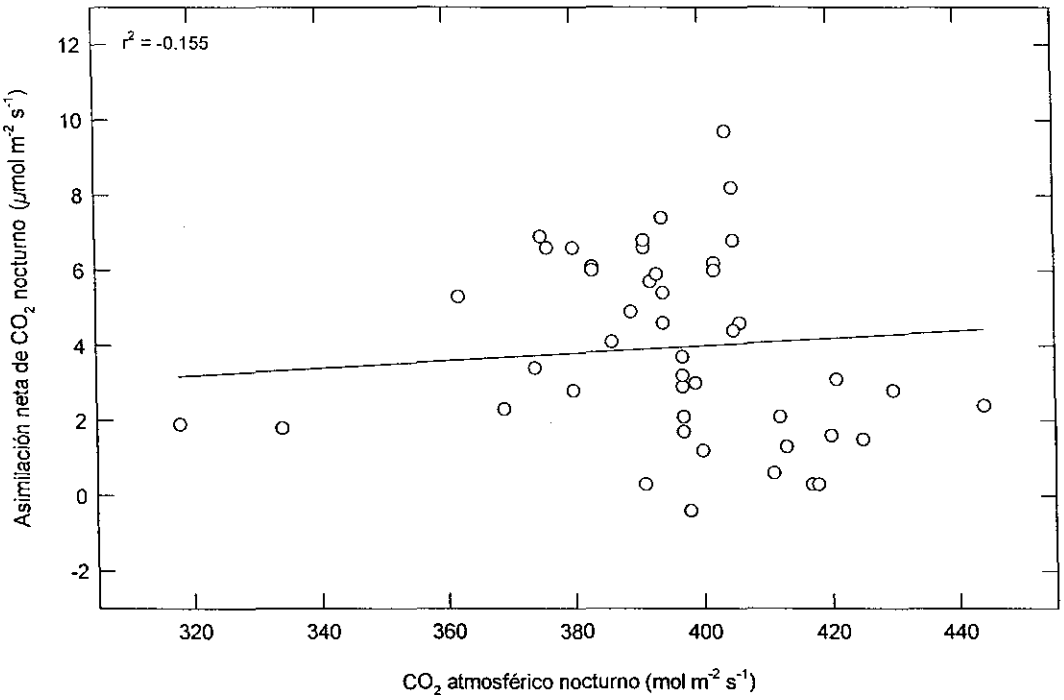

Figura 8. Relación entre la asimilación neta de CO_2 nocturno y el CO_2 atmosférico nocturno en *O. ficus-indica*

En la tabla 4, se observa asimilación de CO_2 en las fases del metabolismo CAM en cada una de sus fechas de evaluación. La fase I se caracteriza por los estomas abiertos y se presenta por la noche y es también cuando se presenta la mayor captura de carbono. En esta fase se presentaron diferencias significativas en la asimilación de CO_2 entre las fechas evaluadas; en febrero, mayo, junio y diciembre se registraron valores significativamente mayores de asimilación que el resto de las fechas. Mientras que en julio, se registró el valor más bajo de asimilación de CO_2 . Cuando los tejidos son iluminados y se inicia el cierre de estomas como resultado de una alta presión parcial de CO_2 intercelular (concentración de CO_2 interno), se presenta una fase transicional (la fase II), en la cual continúa registrándose asimilación de CO_2 que en algunas fechas se aproximaron al 15% del total diario. Sin embargo, julio, agosto y octubre presentaron poca asimilación en esta fase.

En la fase III, que ocurre durante la mayor parte del día y se caracteriza por mantener los estomas cerrados, predominan los registros con valores negativos de asimilación de CO_2. Aunque en julio y agosto los valores negativos fueron muy bajos, febrero destacó por presentar un registro negativo significativamente superior al resto.

Cuando el ácido málico almacenado en la vacuola de las células se agota, inicia la apertura de estomas debido a la baja disponibilidad de CO_2. Esta fase se conoce como fase IV y también se considera transicional. Con excepción de octubre, la mayoría de las fechas presentaron en esta fase una asimilación considerable de CO_2 con respecto al total diario.

Al separar la conductancia estomática en cada una de las fases CAM y en las diferentes fechas de evaluación (tabla 5), la fase I, donde se presenta mayor asimilación de CO_2 no registró diferencias significativas entre las conductancias de las diferentes fechas, mientras que, en las fases II, los registros de conductancia estomática en febrero y octubre fueron significativamente inferiores al resto. Los meses de agosto y octubre presentaron valores de conductancia significativamente menores en la fase III y mayo en la fase IV.

Tabla 5. Conductancia estomática de CO_2 (mol m^{-2} s^{-1}) durante las fases CAM en respuesta a la variación estacional en diferentes fechas

	FASES			
	I	II	III	IV
11-12 de febrero	0.292a	0.281b	0.200a	0.309a
26-27 de mayo	0.361a	0.496a	0.169a	0.050b
7-8 de junio	0.304a	0.500a	0.123a	0.149a
12-13 de julio	0.385a	1.285a	0.111a	0.302a
25-26 de agosto	0.312a	0.721a	0.087b	0.218a
10-11 de octubre	0.239a	0.157b	0.064b	0.135a
7-8 de diciembre	0.345a	0.392a	0.206a	0.241a

Los datos son promedios (n=7 plantas). Los valores dentro de cada columna seguidos por diferente letra son significativamente diferentes $P<0.5$

DISCUSIÓN

Las tasas relativamente bajas de asimilación de CO_2 encontradas en este trabajo para *O. ficus-indica* (en promedio 5.3 µmol m^{-2} s^{-1}) con respecto a plantas C_3 y C_4 (en promedio aproximadamente 10-20 y 20-40 µmol m^{-2} s^{-1} respectivamente) (Salisbury y Ross, 1992), concuerdan con estudios realizados en otras especies con metabolismo CAM (i.e. *Kalanchoe daigremontiana*), donde se reportan limitaciones a la difusión de CO_2 debido a la suculencia de la hoja, lo que las hace menos eficientes durante las fases transicionales del metabolismo CAM (Maxwell et al., 1997). Sin embargo debido a las grandes vacuolas que la mayoría de estas posee, son capaces de almacenar malato y agua (amortiguadores contra la desecación) (Lawlor, 2001) y puesto que el malato cumple una función de almacén de reserva de CO_2 mientras los estomas permanecen cerrados (Osmond, 1996), las CAM logran alcanzar altas proporciones de fijación de CO_2 en relación a las perdidas de agua, comparativamente a las C_3 y C_4 (Lawlor, 2001).

La asimilación neta de CO_2 instantánea en las plantas de *O. ficus-indica*, inició antes de la puesta de sol en la mayoría de las fechas de medición, y registró en todos los meses su máxima expresión dentro del periodo de oscuridad (fase I). Fase en la cual los estomas se cierran por una alta concentración de CO_2 intercelular y el malato es descarboxilado liberando CO_2 para luego ser refijado por la enzima Rubisco, incrementando su concentración interna (Cushman y Bohnert, 1999; Cushman, 2001), como comúnmente ocurre en las plantas CAM. Aunque, se observó asimilación poco antes del inicio de dicho periodo y en algunos casos, unas horas después del final del mismo.

Generalmente la fijación de CO_2 por los cladodios de nopal es más alta cuando existe disponibilidad de agua en el suelo, la temperatura diurna y nocturna son adecuadas (25°C/15°C día/noche) y el flujo diario de fotones absorbidos por los pigmentos fotosintéticos es el máximo para la especie en ese hábitat (Nobel, 1995). Por ejemplo en *Opuntia basilaris* se encontró una diferencia dos veces mayor en la respiración a 32°C que a 15°C, significando esto que, a 32°C habrá dos veces la cantidad de sustrato endógeno disponible para acidificación nocturna (Szarek et al.,1973).

La temperatura es la variable climática que ejerce mayor efecto, encontramos que, cuando esta descendió por debajo de los 10°C o se elevó por arriba de 24 °C se inició un descenso en la asimilación neta de CO_2 , valores similares a los reportados por Nobel y Hartsock (1984) en *O. ficus-indica*. La temperatura a la cual esta especie alcanzó las mayores tasas de asimilación se encontró entre los 15 y 20 °C para la mayoría de las fechas evaluadas.

En general, se registró una alta correlación entre la humedad relativa y la asimilación neta de CO_2. En la mayoría de las fechas de evaluación la asimilación máxima de CO_2 coincide con valores de humedad relativa promedio cercanos al 80%. Sin embargo, el hecho de encontrar en mayo una alta correlación entre ambas variables, el porcentaje promedio más bajo de humedad relativa (49%) y un valor de los más altos en asimilación neta de CO_2, nos indica que, dichos porcentajes de humedad, favorecen en gran medida los niveles de asimilación neta de CO_2, comparativamente a los meses en que la humedad relativa promedio fue más alta.

Los registros de FFF para los meses de mayo, octubre y diciembre (919, 937 y 872 µmol m^{-2} s^{-1} respectivamente), fueron los más bajos y se encontraron muy por debajo de los limites promedio establecidos como intervalo micromolar (2000 a 2300 µmol m^{-2} s^{-1}, Salisbury y Ross, 1992) en un día despejado. La intensidad luminosa depende de factores como época del año, latitud, altitud y condiciones atmosféricas. Por lo tanto, la posible presencia de nubosidad en la zona junto con vapor de agua y otras partículas presentes en la atmósfera como polvos, CO_2 y ozono podría explicar los bajos registros de este parámetro ambiental durante las fechas señaladas. Uno de los efectos que podrían esperarse a partir de los anteriores resultados es la disminución de la tasa fotosintética, la cual no depende únicamente de la luz.

Las fechas con los registros más altos de asimilación correspondieron a fechas donde los registros de FFF fueron más bajos (la asimilación fue mayor en las fechas en que el periodo nocturno fue más largo). La disponibilidad de luz en mayo y diciembre fue relativamente baja con respecto a la mayoría de las fechas restantes, los registros de asimilación neta de CO_2 en ambas fechas fueron los más altos (296 y 332 µmol m^{-2} d^{-1} respectivamente). Los valores altos de asimilación de CO_2 en mayo y diciembre pudieran estar relacionados con el bajo FFF. Sin embargo, en diciembre se registró el valor más alto de asimilación de CO_2, que aunque fue estadísticamente similar a mayo, y aún cuando los parámetros ambientales como la temperatura en diciembre fue el registro más bajo a lo largo del estudio y el porcentaje de humedad relativa fue mayor a mayo (69%), en ambas fechas el porcentaje de humedad relativa se encontró fuertemente relacionado con la asimilación de CO_2. Lo que indica que, la

asimilación de CO_2 en *O. ficus-indica* está altamente relacionada con la temperatura, la humedad relativa y la disponibilidad de luz y, este último, en función a la magnitud del fotoperiodo más que a la intensidad.

El FFF en julio fue relativamente alto (1192 µmol m^{-2} s^{-1}) con respecto al resto de los meses. En este mes se registraron los valores más bajos de asimilación neta de CO_2 (64 mmol m^{-2} d^{-1}), datos que coinciden con los reportados por Pimienta-Barrios et al., 2000).

Para que las hojas asimilen el CO_2, primero el gas debe difundirse a través de la capa externa y luego a través del estoma a la cámara sub-estomática. Desde ahí, debe pasar en forma gaseosa por los espacios de aire intercelular hasta que alcance una pared celular del mesofilo (Parkhurst y Mott 1990). La fijación fotosintética de CO_2 ocurre con la enzima Rubisco, esto es la final de una ruta compleja de difusión. Ya que el CO_2 y el vapor de agua comparten una ruta común de difusión desde el aire a los espacios dentro de la hoja, los análisis de flujo de vapor de agua proporcionan estimaciones aproximadas de la conductancia estomática. La presión parcial de CO_2 disminuye a través de cualquier parte de la ruta que tenga baja conductancia. Cualquier componente de baja conductancia en la ruta de difusión representa una limitante para la fotosíntesis siempre que este componente no esté saturado de CO_2 (Harley et al., 1992). En el caso de *O. ficus-indica*, los pequeños espacios de aire intercelular debidos a la suculencia representan una limitante para la difusión de CO_2 intercelular, aquel que debe ser transportado de las cavidades sub-estomáticas a los sitios de carboxilación.

En el contexto de difusión de gases, se denomina conductancia al inverso de la resistencia a la difusión (generalmente en μmol $m^{-2}s^{-1}$). En la conductancia

estomática, la fuerza impulsora del CO_2 hacia el interior de la hoja, es la diferencia entre la presión del gas en el interior y la presión de la atmósfera exterior (Salisbury y Ross, 1992). La conductancia estomática puede variar rápidamente cuando las hojas se ajustan a cambios en la irradiación, CO_2 o humedad. Por el contrario, la conductancia de transferencia de CO_2 de las cavidades subestomáticas a los sitios de carboxilación es aproximadamente constante durante un día (Evans y Caemmerer, 1996).

Los resultados en este trabajo muestran que la conductancia estomática registrada para *O. ficus-indica* presentó cierta relación con la asimilación de CO_2. Los registros mayores de asimilación coincidieron con los valores promedio de conductancia (0.2 a 0.4 mol m^{-2} s^{-1}). La conductancia estomática fue favorecida por un porcentaje alto de humedad relativa y baja concentración de CO_2 intercelular. La mayor conductancia estomática se observó cuando la temperatura fue moderada y la humedad relativa e irradiación se mantuvieron en niveles relativamente altos (72% y 1189 μmol $m^{-2}s^{-1}$ respectivamente). Sin embargo, disminuyó cuando se registró un descenso en la densidad de flujo fotónico y esta disminución coincidió con una baja concentración de CO_2 intercelular.

Al comparar la respuesta fisiológica de *O. ficus-indica* a las variaciones de conductancia estomática de CO_2 nocturno, encontramos que el incremento de la conductancia estomática nocturna coincidió con un incremento en la asimilación neta de CO_2 nocturno, lo que indica que la baja difusión de CO_2 externo limita o afecta negativamente la asimilación por la planta.

Resultados similares han sido reportados por Parkhurst y Mott 1990, en un estudio comparativo entre especies hipoestomáticas y anfiestomáticas, para

determinar la magnitud limitante de la asimilación fotosintética de carbono por efecto de la difusión del CO_2; donde demuestran que las bajas tasas de difusión de CO_2 limitan más allá del 7% la asimilación de CO_2 en especies anfiestomáticas, como el nopal.

Además de la influencia en la respuesta fisiológica del nopal por la variación estacional de las variables temperatura luz y humedad relativa, el nivel de concentración de CO_2 en la atmósfera – cuyas variaciones estacionales pueden estar interrelacionadas con las variables ambientales mencionadas -, ha manifestado efectos fisiológicos en plantas CAM, cuando varía o se inducen variaciones de su concentración en la atmósfera (Nobel y Hartsock, 1986; Nobel y García, 1991).

Aunque en otras especies CAM como *Kalanchoe daigremontiana* el incremento en la concentración de CO_2 atmosférico tiene poco efecto en la asimilación de CO_2 (Osmond y Björkman, 1975) y en *Portulacaria afra* (Huerta y Ting, 1988) se encontró que disminuye la asimilación nocturna.

En este estudio se encontró que en *O. ficus-indica*, el incremento en los valores de asimilación de CO_2 coincidieron con incrementos en las variaciones de CO_2 atmosférico. Aunque, dichos valores de asimilación presentaron un fuerte descenso cuando la concentración de CO_2 atmosférico supera los 400 mol m^{-2} s^{-1}.

Por otro lado, aunque se encontró poca relación entre la asimilación y el CO_2 interno, cuando se incrementó su concentración en la planta, disminuyó de manera gradual la asimilación de CO_2. Lo que coincide con lo mencionado por Lüttge (2002), donde reportó que altas concentraciones de CO_2 intercelular (presión parcial de CO_2) en plantas con metabolismo ácido de las crasuláceas,

inducen además de otros efectos, consecuencias mecánicas como el cierre de estomas, y consecuentemente la disminución de la asimilación.

CONCLUSIONES

En *O. ficus-indica* se observa que la asimilación neta de CO_2, es mayor cuando la temperatura del aire se encuentra entre los 10 y 24 °C, la temperatura del aire es un factor ambiental determinante en la respuesta fotosintética de esta especie. Las fechas con registros de mayor asimilación están además relacionadas con el bajo FFF y bajas tasas de humead relativa.

La variación estacional en la asimilación de CO_2 en *Opuntia ficus-indica* mantiene estrecha relación con la variación de los periodos en que el flujo fotónico fotosintético aumenta o disminuye, ya que mantienen cierta dependencia con la duración del fotoperiodo.

Las variaciones en la concentración y capacidad de difusión o conductancia estomática de CO_2 atmosférico en *O. ficus-indica,* afectan la asimilación de la planta, y ambos guardan cierta relación a su vez con factores ambientales como, humedad relativa, temperatura y luz (cantidad e intensidad), entre otros.

BIBLIOGRAFÍA

Arreola-Nava, H. J. 1990. Inventario de las cactáceas de Jalisco y su distribución. Cactaceas y Suculentas de México. 35(1):3 -12.

Berg, A. y Orthen B. 2003. Expression of crasssulacean acid metabolism in *Clusia hilariana* Schlechtendal in different stages of development in the field. Trees 18: 553-558.

Borland A.M., Laszlo I., Richard C., Leegood, Robert P. W. 1998. Inducibility of crassulacean acid metabolism (CAM) in Clusia species; physiological/biochemical characterization and intercellular localization of carboxylation and decarboxylation processes in three species which exhibit different degrees of CAM. Planta 205:3:342-351.

Carnal N.W.,Black C.C.,1989. Soluble sugars as the carbohydrate reserves for CAM in pineapple leaves. Plant Physiology 90: 91-100

Cushman, J.C. y Bohnert, H. J. 1999. Crassulacean acid metabolism: Molecular genetics. Annual Review of Plant Physiology 50: 305- 332.

Cushman, J.C., 2001. Crassulacean acid metabolism: A plastic photosynthetic adaptation to arid environments. Plant Physiology 127:1439-1448.

De la Loma, J.L. 1982. Experimentación agrícola. UTHEA. Escuela Nacional de Agricultura, Chapingo, México.

Evans, J.R. y S. von Caemmerer. 1996. Carbon dioxidde difusión incide leaves. Plant Physiology 110: 339-346.

Fahrendorft T., Holtum, J.A.M., Mukherjee U., Latzko E. 1987. Fructose 2,6-biphosphate, carbohydrate partitioning and Crassulacean Acid Metabolism. Plant Physiology 84: 182 –187.

Goldstein, G. y P.S. Nobel. 1994. Water relatios and low-temperature acclimation for cactus species varing in freezing tolerance. Plant physiology 104: 675-681.

González, D.A., Riojas, L.M.E., Arreola, N.H.J. 2001. El género Opuntia en Jalisco. Guía de campo. Universidad de Guadalajara.

Granados, S.D. y A.D.P. Castañeda. 1991. El nopal: Historia, fisiología, genética e importancia frutícola. Trillas, México, 227 pp.

Harley, P.C., Loreto, F. DiMarco, G., y Sharhey, TD. 1992. Theoretical considerations when estimating the mesophyll conductance to CO_2 flux by analysis of the response of photosynthesis to CO_2. Plant Physiology 98: 1429-1436.

Huerta A.J. y Ting I.P. 1988. Effects of various levels of CO_2 in the induction of crassulacean acid metabolism in *Portulacaria afra* (L.) Jacq. Plant Physilogy 88: 183-188.

Kiesling, R. 1999. Origen Distribución y Domesticación de *Opuntia ficus-indica.* Instituto de Botánica Darwiniana, San Isidro Argentina. http://www.jpacd.org/Jpacd98/kiesling.pdf

Kluge M, y Ting I.P., 1978. Crassulacean acid metabolism: an ecological analysis. Ecological Estudies Series, Vol. 30. Springer-Verlag, Berlin.

Lawlor. D.W. 2001. C4 Photosynthesis and crassulacean acid metabolism. En Photosyntesis. third edition. Ed. Bios 286pp.

Le Houérou, H.N. 1996. The role of cacti. (*Opuntia sps.*) in erosion control, land reclamation, rehabilitation and agricultural development in the Mediterranean basin. Journal of Arid Environments 33: 135-159.

Lüttge, U. 2002. CO_2-concentrating: Consequences in crassulacean acid metabolism. Journal of Experimental Botany Vol. 53 (378): 2131-2142.

Maxwell, K. Caemmerer, S.V. y Evans J. R. 1997. Is a low internal conductance of CO_2 diffusion a consequence of sussulence in plants whit crassulacean acid metabolism. Australian Journal of Plant Physiology 24: 777-786.

Maxwell, K. Borland, A.M., Haslam, R.P., Helliker, B.R., Roberts, A. y Griffiths, H. 1999. Modulation of rubisco activity during the diurnal phases of the crassulacean acid metabolism plant *Kalanchoe daigremontiana*. Plant Physiology 121: 849-856.

Mondragón, C. y Pimienta-Barrios, E. 1995. Domestication of Opuntias and cultivated varieties. En: Agro-ecology, Cultivation and Use of Cactus Pear. FAO Plant Production and Protection Paper 132: 1-11.

Nobel, P.S. (in press). CAM crops. In: Reddy, K.R. & Hodges, H.F. (Eds), *Climate changes and global crop productivity*. England, Wallingford: CAB International.

Nobel, P.S. y García de C.V. 1991. Growth and predicted productivity of *Opuntia ficus-indica* for current and elevated carbon dioxide. Agronomy journal 83: 224-230.

Nobel, P.S., y Hartsock, T.L. 1983. Relationships between photosynthetically active radiation, nocturnal acid accumulation, and CO_2 uptake for a crassulacean acid metabolism plant, *Opuntia ficus-indica*. Plant Physiology 71: 71-75.

Nobel, P.S. y Hartsock, T.L. 1986. Short term and long term responses of crassulacean acid metabolism plants to elevated CO_2. Plant Physiology 82: 604-606.

Nobel, P.S. y Loik, M.E. 1990. Thermal analysis, cell viability and CO_2 uptake of a widely distributed North American cactus, *Opuntia humifusa*, at subzero temperatures. Plant Physiology and Biochemistry 28: 429-436.

Nobel, P. S. 1995. Avances recientes en la ecofisiología de *Opuntia ficus-indica* y otras cacatáceas. 6° Congreso Nacional y 4° Congreso Internacional sobre el conocimiento y aprovechamiento del nopal. pp. 76-81.

Osmond, C.B. y Bjorkman O. 1975. Patways of CO2 fixation in the CAM plant *Kalanchoe daigremontiana*. II. Effects of O_2 and CO_2 concentration on light and dark CO_2 fixation. Australian Journal of Plant Physiology 2: 155-162.

Osmond, C.B., Popp, M. y Robinson, S.A. 1996. 1 Stoichimetric Nightmares: Studies of photosynthetic O_2 y CO_2 exchanges in CAM plants. En: Winter, K. y Smith J.A.C. (eds) *Crassulacean acid metabolism*. Springer-Verlag, Heidelberg, 19-30.

Parkhurst D.F. y K. M. Mott. 1990. Intercellular diffusion limits to CO_2 uptake in leaves. Plant physiology 94: 1024-1032.

Pimienta-Barrios, E. y Nobel, P.S., 1994. Pitaya (*Stenocereus* spp., Cactaceae) An ancient and modern fruit crop of México. Economic Botany 48: 76-83.

Pimienta-Barrios, E., Zañudo, J., Yépez, E., Pimienta-Barrios En., y Nobel, P. S. 2000. Seasonal variation of net CO_2 uptake for cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) and pitayo (*Stenocereus queretaroensis*) in semi-arid environment. Journal of Arid Environments 44: 73-83.

Pimienta-Barrios, E. 2003. Ecofisiología de la fotosíntesis. Universidad de Guadalajara. Pags.

Pimienta-Barrios, E., Zañudo, J., Rosas-Espinoza, V., Valenzuela-Tapia A., y P.S. Nobel. 2005. Young daugther cladodes affect CO_2 uptake by mother cladodes of *Opuntia ficus-indica*. Annals of Botany 95: 363-369.

Roberts, A., Borland A.M., Griffiths H. 1997. Discrimination processes and shifts in carboxilation during the phases of Crassulacean acid metabiolism. Plant Physiology 113: 1283 – 92.

Russell, C.E., y Felker, P. 1987. The prickly-pears (*Opuntia* spp., *Cactaceae*): A source of human and animal food in semiarid regions. Economic Botany 41(3): 433-445.

Salisbury, F.B. y Ross, C.W. 1992. Fisiología vegetal, versión en español de la obra Plant Physiology 4ª edición, Wadsworth Publishing. Grupo Editorial Iberoamérica 759p.

Smith, J.A.C., y Heuer, S. (1981). Determination of the volume of intercellular spaces in leaves and some values for CAM plants. Annals of Botany 48: 915-917.

Szarek, R.S., Jonson H.B., Ting I.P. 1973. Drougth adaptation in *Opuntia basilaris*: Significance of recycling carbon through crassulacean acid metabolism. Plant physiology 52: 539-541.

Villarreal de Puga, L. M., Tena-Meza, M.P. 1992. Vegetación y Flora. En: Enciclopedia Temática de Jalisco, Geografía: vegetación y flora. Gobierno del Estado de Jalisco. Tomo 1, pp.181-209.

Winter K. y Smith J.A.C. 1996. An introduction to crassulacean acid metabolism. Biochemical principles and ecological diversity. En: Winter, K. y Smith J.A.C. (eds) *Crassulacean acid metabolism*. Springer-Verlag, Heidelberg, 1-13.