

Φ Y T O N

INTERNATIONAL JOURNAL OF EXPERIMENTAL BOTANY
REVISTA INTERNACIONAL DE BOTANICA EXPERIMENTAL

ISSN 0031 9457

Founded 1951 by Fundada en 1951 por
Miguel Mario Raggio & Nora Moro de Raggio

Editor-in-Chief: Dr. Carlos A. Busso

Publicada por/ Published by: FUNDACIÓN RÓMULO RAGGIO

Director General: Dr. Mario Miguel Raggio

Gaspar Campos 861, 1638 Vicente López (BA) ARGENTINA

TEL: 54-11-4796-1456 / TELFAX: 54-11-4791-0868

www.revistaphyton.fund-romuloraggio.org.ar / fund_r_raggio@hotmail.com

FECHA: 24.01.2016

Dr. Erick de la Barrera delabarrera@unam.mx

Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad

Universidad Nacional Autónoma de México

Morelia, Michoacán

México.

De nuestra mayor consideración:

Tenemos el agrado de informarle que el manuscrito “**Acumulación nocturna de acidez titulable por *Tillandsia makoyana* (Bromeliaceae), epífita de la selva baja caducifolia**”

por los autores: **Díaz-Álvarez EA, AP Rojas-Cortés, E de la Barrera** ha sido aceptado para publicación en el Volumen 86 (2017) de ΦYTON INTERNATIONAL JOURNAL OF EXPERIMENTAL BOTANY.

Saludamos a Ud. muy atentamente,

Alejandra Krüsemann de Raggio

Por los Editores de ΦYTON

**Acumulación nocturna de acidez titulable por *Tillandsia makoyana*
(Bromeliaceae), epífita de la selva baja caducifolia**

Edison A. Díaz-Álvarez^{1,2}, Ángela P. Rojas-Cortés³ y Erick de la Barrera^{1,4}

¹ Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, Universidad Nacional Autónoma de México, Morelia, Michoacán, México

² Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., México

³ Universidad Michoacana San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México.

⁴ Autor para la correspondencia: delabarrera@unam.mx

Resumen: Se estudió la bromelia epífita *Tillandsia makoyana* para evaluar la contribución de los factores ambientales agua, temperatura y luz en la expresión del metabolismo ácido de las Crasuláceas. En particular, se determinaron la acumulación nocturna de ácido málico y la temperatura máxima de la hoja en respuesta al riego y a la cantidad de luz incidente. El tratamiento de riego y luz directa indujo la mayor acumulación nocturna de acidez titulable de $24.52 \pm 0.34 \text{ mmol H}^+ \text{ m}^{-2}$, mientras que aquella de las plantas sin riego y bajo sombra fue 59% menor. Los resultados ilustran una respuesta rápida de la actividad fotosintética a la disponibilidad de agua en *Tillandsia makoyana*, especie originaria de un ambiente donde este factor ambiental es muy fluctuante.

Palabras clave: Chamela, Epifitas, Metabolismo ácido de las crasuláceas, Relaciones hídricas, Sombra

Abstract: The epiphytic bromeliad *Tillandsia makoyana* was studied to assess the contribution of the environmental factors, water, temperature, and light, to the expression of the Crassulacean acid metabolism. In particular, nocturnal titratable acidity accumulation and maximum leaf temperature were measured in response to watering and incident light. Plants that were watered and exposed to direct sunlight had the highest nocturnal accumulation of titratable acidity of $25.52 \pm 0.34 \text{ H}^+ \text{ m}^{-2}$, while the plants without irrigation and kept in the shade had a 59% reduction in their titratable acidity. Our results illustrate a rapid response of the photosynthetic activity to water availability for *Tillandsia makoyana*, native from an ecosystem where this environmental factor greatly fluctuates.

Key words: Chamela, Crassulacean acid metabolism, Epiphytes, Shade, Water relations.

Las plantas epífitas poseen adaptaciones morfológicas, anatómicas y fisiológicas que les permiten enfrentar las condiciones generalmente secas del dosel, incluyendo, la fotosíntesis mediada por el metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM), la succulencia en hojas y la presencia de tricomas epidérmicos (Andrade et al., 2004; Reyes-García y Griffiths, 2009). Por ejemplo, en bromelias epífitas CAM, el potencial hídrico foliar disminuye durante la noche por la acumulación de ácidos orgánicos, lo que incrementa su capacidad de absorber el rocío matinal que es canalizado hacia los estomas por los tricomas foliares (Griffiths, 1988; Andrade, 2003). Se ha estimado que el 57% de las plantas epífitas presentan CAM y que tienden a ser más abundantes que las epífitas C₃ en los sitios más expuestos del dosel y en los bosques más secos (Benzing, 1987; Zotz, 2004).

Por su parte, los distintos ambientes luminosos que se presentan en el dosel han dado origen a una estratificación de las especies epífitas (Andrade et al., 2004; Lüttge, 2004). Por ejemplo, las especies con hojas más pequeñas pero con elevada succulencia y superficies más glaucas son más frecuentes en los estratos más expuestos. En contraste, las hojas de las especies que habitan las partes más sombreadas del dosel tienden a presentar láminas con una mayor superficie pero menor grosor y, en consecuencia, un menor grado de succulencia, además de una concentración mayor de clorofila que sus contrapartes de hábito más expuesto.

Para conocer la respuesta a la luz y a la disponibilidad de agua en la expresión del CAM por la epífita *Tillandsia makoyana* (Bromeliaceae), especie de la selva baja caducifolia, se determinaron su acumulación nocturna de ácido málico y la temperatura máxima foliar en función de la disponibilidad de estos dos factores ambientales.

Materiales y métodos

El estudio se realizó en la selva baja caducifolia de la Estación de Biología Chamela (19°30' N, 105°03' W) de la Universidad Nacional Autónoma de México, la cual forma parte de la Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala, donde cerca del 80% de la precipitación anual (746 mm) ocurre de julio a octubre y la temperatura media es de 25 °C (Bullock, 1986; datos climáticos de la Estación).

El 7 de noviembre de 2011 se colectaron individuos de *Tillandsia makoyana* Baker (sensu Espejo-Serna et al., 2004) con buena vitalidad, que habían sido derribados por el huracán Jova el 12 de octubre de 2011 (Bravo y Hernández, 2011). Las plantas, de aproximadamente 30 cm de alto y 30 cm de diámetro, fueron colocadas en superficies firmes de concreto y sostenidas con rocas pequeñas de tal manera que el eje de cada roseta tuviera una posición ortogonal al piso. En esa posición, las plantas fueron aclimatadas durante dos días a la luz directa del sol ($805 \pm 2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, medido a medio día del 7 al 10 de noviembre de 2011, con un cuantómetro LI-190S; LI-COR Lincoln, Nebraska, EEUU) o a la sombra proyectada por un edificio aledaño y por arboles circundantes ($210 \pm 2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Al mismo tiempo se estableció un tratamiento de riego (200 ml de agua corriente por planta depositados cuidadosamente en cada roseta con un movimiento en espiral de tal manera que todo el líquido quedara contenido en el tanque de la planta) para la mitad de las plantas de cada grupo.

La actividad fotosintética de las plantas se estimó por medio de la acumulación nocturna de acidez titulable (H^+ ; Osmond et al., 1994). El 10 de noviembre de 2011 a las 18:00 y el 11 de noviembre de 2011 a las 6:00 h se tomaron muestras de hoja de cada una de las plantas con un

sacabocados (área de 1.5 cm²). Las muestras fueron puestas en etanol (80% v/v) y hervidas en 10 ml de agua sin dejar que se evaporara esta por completo, antes de ser homogeneizadas en un mortero y aforadas a 50 ml con agua destilada. La solución del macerado se tituló con una solución acuosa de NaOH (0.01 N) hasta alcanzar pH neutro. Por su parte, la temperatura superficial de las plantas se midió a medio día durante el estudio con un termómetro infrarrojo OMEGAETTE OS542 (Omega Engineering, Stamford, CT, EEUU). El desempeño de *T. makoyana* bajo los distintos tratamientos de luz y riego fue comparado mediante un análisis de varianza de dos vías, seguido de pruebas pareadas de Tukey ($p < 0.05$) usando Sigmaplot 12 (Systat Software, Richmond, California, EEUU). Los datos se muestran como media \pm 1 E.E. (n = 5 plantas por tratamiento).

Resultados

La acumulación nocturna de ácidos orgánicos por *Tillandsia makoyana* respondió a la interacción de la luz y el riego (Cuadro 1). Las plantas expuestas a insolación directa y que recibieron riego presentaron la mayor acumulación nocturna de ácidos orgánicos de 24.52 ± 0.34 mmol H⁺ m⁻² (Fig. 1). La acumulación nocturna de ácidos orgánicos fue 59% menor, la más baja, fue observada en las plantas mantenidas en la sombra y sin riego (Fig. 1).

La temperatura superficial de las hojas también respondió a la exposición a la luz y al riego (Cuadro 1). En este caso la mayor exposición y la falta de riego resultaron en la temperatura más alta de 42.2 ± 0.3 °C, mientras que la temperatura más baja, 31.2 ± 0.1 °C, se obtuvo para plantas regadas bajo sombra (Fig. 1).

Discusión

Tillandsia makoyana presenta su máxima acumulación nocturna de acidez titulable durante la estación de lluvias de julio a octubre (Reyes-García et al., 2008, 2011; Reyes-García y Griffiths, 2009). Aquí se observó, de manera similar, que los individuos sujetos a riego presentaron una mayor acumulación de ácidos orgánicos que las plantas sin riego. Sin embargo, contrastó el hecho de que las plantas expuestas a la insolación directa presentaran un mejor desempeño que aquellas bajo sombra, pues durante la época de lluvia, un aumento en el índice de área foliar en el dosel causa que la disponibilidad de luz en el dosel sea relativamente baja en Chamela, pudiendo alcanzar apenas entre 20 y 30% del FFF máximo (Nobel y de la Barrera, 2004).

Agregado al hecho de que la precipitación marcadamente estacional, la disponibilidad de agua en el dosel ocurre en pulsos (Murphy y Lugo, 1986; Andrade y Nobel, 1997). Las plantas epífitas son capaces de sobrellevar esta irregularidad en la disponibilidad de agua al disminuir rápidamente su actividad fotosintética en respuesta a la sequía, por ejemplo, mediante el cierre de los estomas mediado por el ácido giberélico (Acevedo et al., 1983; Stancantoa et al., 2001; Graham y Andrade, 2004). De forma paralela, estas plantas son capaces de recuperar su función fisiológica rápidamente una vez que el agua vuelve a ser disponible. Por ejemplo, el cactus hemiepífito *H. undatus* sometido a una sequía de dos semanas recupera su tasa máxima de intercambio de gases ocho días después de reiniciar el riego (Nobel y de la Barrera, 2002).

La temperatura superficial de las hojas medida al medio día fue menor en las plantas con riego que en aquellas sin riego, lo que podría atribuirse a una pérdida de calor por transpiración

diurna en esta especie CAM inducida por el riego (Hartsock y Nobel, 1976; Andrade et al., 2007). Sin embargo, *T. makoyana* se reporta como una especie CAM estricta que no realiza intercambio gaseoso durante el día aún bajo condiciones de buen riego (Mooney et al. 1989, Reyes-García et al., 2008). En este caso, la diferencia de temperatura observada podría deberse a pérdida de calor latente durante la evaporación del agua contenida en el tanque de las plantas.

En plantas CAM, la acumulación nocturna de acidez titulable (ΔH^+) responde directamente al flujo de fotones incidente sobre las plantas durante el día anterior (Andrade et al., 2007). En este estudio el flujo de fotones no influyó de manera sustancial en ΔH^+ , pues un aumento cercano al 400% en el flujo apenas produjo un incremento de 33% en la acumulación ΔH^+ en planas con riego y de 16% en plantas con sombra. En contraste, para *T. usneoides* la máxima ΔH^+ ocurre bajo $125 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y se inhibe sustancialmente bajo flujos de fotones mayores o menores (Martin et al., 1986). La amplitud del flujo de fotones adecuada para la fotosíntesis en *T. makoyana*, probablemente es el resultado de la adaptación a los niveles de luz presentes en la parte media del dosel donde habita (Reyes-García y Griffiths, 2009).

En este experimento se confirmó que las plantas epífitas, como *Tillandsia makoyana*, responden de manera muy rápida a la disponibilidad de agua, investigaciones futuras deben considerar a otras especies, como *T. rothii* que crece en las partes más externas del dosel o *Achmea bracteata* de hábito terrestre, para conocer las diferentes adaptaciones que han desarrollado estas especies del bosque seco.

Agradecimientos

Los autores agradecen al personal de la Estación de Biología Chamela por las facilidades brindadas para la realización de este trabajo y al doctor Mauricio Quesada por discusiones que enriquecieron este trabajo. Este trabajo fue financiado por la Dirección General del Personal Académico de la UNAM (PAPIIT IN205616) y EADA contó con una beca de estudios de posgrado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, México.

Literatura citada

- Acevedo E, Badilla I y Nobel PS. 1983. Water relations, diurnal acidity changes, and productivity of a cultivated cactus, *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiology* **72**: 775-780.
- Andrade JL y Nobel PS. 1997. Microhabitats and Water Relations of Epiphytic Cacti and Ferns in a Lowland Neotropical Forest. *Biotropica* **29**: 261-270.
- Andrade JL. 2003. Dew deposition on epiphytic bromeliad leaves: an important event in a Mexican tropical dry deciduous forest. *Journal of Tropical Ecology* **19**: 479-488.
- Andrade JL, Graham EA y Zotz G. 2004. Determinantes morfofisiológicos y ambientales de la distribución de epifitas en el dosel de bosques tropicales. En: Marino-Cabrera H. (Ed). Fisiología ecológica en plantas. Mecanismos y respuestas a estrés en los ecosistemas Ediciones Universitarias de Valparaiso, Valparaiso, Chile. Pp. 139-156.
- Andrade JL, de la Barrera E, Reyes-García C, Ricalde MF, Vargas-Soto G y Cervera JC. 2007. El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad, fisiología ambiental y productividad. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* **81**: 37-50.
- Benzing DH. 1987. Vascular Epiphytism-Taxonomic Participation and Adaptive Diversity. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **74**: 183-204.
- Bravo C y Hernández A. 2011. Reseña del huracán “Jova” del Océano Pacífico, Servicio Meteorológico Nacional. Disponible en <http://smn.cna.gob.mx/ciclones/tempo2011/pacifico/Jova-p11.pdf> (consultado el 26 de marzo de 2012).

- Bullock SH. 1986. Climate of Chamela, Jalisco and trends in the south coastal region of Mexico. *Archives for Meteorology, Geophysics and Bioclimatology, Series B* **36**: 297-316.
- Espejo-Serna A, López-Ferrari AR, Ramírez-Morillo I, Holst BK, Luther HE y Till W. 2004. Checklist of Mexican Bromeliaceae with notes on species distribution and levels of endemism. *Selbyana* **25**: 33–86.
- García-Oliva F, Camou A y Maas JM. 2002. El clima de la región central de la costa del Pacífico mexicano. En: Noguera FA, Quesada M, Vega J y García-Aldrete A (Eds.) *Historia Natural de Chamela*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México. Pp 3-10.
- Graham EA y Andrade JL. 2004. Drought tolerance associated with vertical stratification of two co-occurring epiphytes bromeliads in a tropical dry forest. *American journal of Botany* **91**: 699-706.
- Griffiths H. 1988. Crassulacean acid metabolism: a re-appraisal of physiological plasticity in form and function. *Advances in Botanical Research* **15**: 43-92.
- Hartsock TL y Nobel PS. 1976. Watering converts a CAM plant to daytime CO₂ uptake. *Nature* **262**: 574-576.
- Lüttge U. 2004. Ecophysiology of Crassulacean Acid Metabolism (CAM). *Annals of Botany* **93**: 629-652.
- Martin CE, Eades CA, Pitner RA. 1986. Effects of Irradiance on Crassulacean Acid Metabolism in the Epiphyte *Tillandsia usneoides* L. (Bromeliaceae). *Plant Physiology* **80**: 23-26.

- Murphy PG y Lugo AE. 1986. Ecology of tropical dry forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* **17**: 67-88.
- Nobel PS y de la Barrera E. 2002. Stem water relations and net CO₂ uptake for a hemiepiphytic cactus during short-term drought. *Environmental and Experimental Botany* **48**: 129–137.
- Osmond CB, Adams III WW y Smith SD. 1994. Crassulacean acid metabolism. En: Percy RW, Ehleringer JR, Mooney HA y Rundel PW (Eds.) *Plant Physiological Ecology. Field Methods and Instrumentation*. Chapman y Hall, London. Pp. 255-280.
- Reyes-García C, Griffiths H, Rincón E y Huante P. 2008. Niche differentiation in tank and atmospheric bromeliads of a seasonally dry forest. *Biotropica* **40**: 168-175.
- Reyes-García C y Griffiths H. 2009. Ecophysiological studies of perennials of the Bromeliaceae family in a dry forest: strategies for survival. En: de la Barrera E y Smith WK (Eds.) *Perspectives in Biophysical Plant Ecophysiology: A Tribute to Park S. Nobel*. Universidad Nacional Autónoma de México. Pp. 120-141.
- Reyes-García C, Mejía-Chang M y Griffiths H. 2011. High but not dry: diverse epiphytic bromeliad adaptations to exposure within a seasonally dry tropical forest community. *New Phytologist* **193**: 745-754.
- Stancatoa GC, Mazzafera P y Buckeridg MS. 2001. Effect of a drought period on the mobilization of non-structural carbohydrates, photosynthetic efficiency and water status in an epiphytic orchid. *Plant Physiology and Biochemistry* **39**: 1009–1011.

Zotz G. 2004. How prevalent is crassulacean acid metabolism among vascular epiphytes?

Oecologia **138**: 184-192.

Cuadro 1. ANOVA de dos vías de la respuesta de la acumulación nocturna de acidez titulable y de la temperatura superficial en *Tillandsia makoyana* bajo la sombra o expuestas a la luz directa del sol y sometidas a dos condiciones de riego.

	Acidez titulable			Temperatura superficial	
	G.L.	F	P	F	P
Luz	2	157.971	< 0.001	642.359	< 0.001
Riego	1	912.013	< 0.001	19.827	< 0.001
Luz × Riego	2	62.754	< 0.001	1.132	0.350

Leyenda de figura

Figura 1. Acumulación nocturna de acidez titulable y temperatura máxima superficial de *T. makoyana* en respuesta al riego y a la exposición a la luz solar. Los datos se muestran como promedio \pm E.E. (n = 5 individuos) para plantas que recibieron insolación directa (L) o que estaban bajo sombra (l) y que fueron regadas (R) o tuvieron el riego suspendido (r).

Figura 1

