

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

Nocturnal accumulation of titratable acidity in *Tillandsia makoyana* (Bromeliaceae), epiphytic bromeliad of the tropical dry forest

Díaz-Álvarez EA^{1,2}, AP Rojas-Cortés^{1,2}, E de la Barrera¹

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, la temperatura máxima de la hoja en respuesta al riego y la cantidad de luz incidente. Los tratamientos de riego y luz directa determinaron la mayor acumulación nocturna de acidez titulable ($24,52 \pm 0,34$ mmol H⁺/m²), mientras que aquella en las plantas sin riego y bajo sombra fue 59% menor. Los resultados ilustraron 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; Epífitas; 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 (25.52 ± 0.34 H⁺/m²), while those without irrigation and shaded showed a 59% reduction in their titratable acidity. Our results illustrated a rapid response of the photosynthetic activity to water availability in *Tillandsia makoyana*, a native species from an ecosystem where this environmental factor fluctuates greatly.

Keywords: Chamela; Crassulacean acid metabolism; Epiphytes; Shade; Water relations.

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.

Address correspondence to: Erick de la Barrera, e-mail: delabarrera@unam.mx

Received 14.V.2014. Accepted 24.I.2016.

INTRODUCCIÓN

Las plantas epífitas poseen adaptaciones morfológicas, anatómicas y fisiológicas que les permiten resistir las condiciones generalmente secas del dosel. Estas adaptaciones incluyen 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 C_3 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 ($19^{\circ} 30' N$, $105^{\circ} 03' O$) 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 $25^{\circ} C$ (Bullock, 1986; datos climáticos de la Estación).

El 7 de noviembre de 2011 se obtuvieron 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 ($805 \pm 2 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, 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 árboles circundantes ($210 \pm 2 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$). 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 $1,5 \text{ cm}^2$). Las muestras fueron puestas en etanol (80% v/v) y hervidas en 10 mL de agua sin dejar que ésta se evaporara 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 (Tabla 1). Las plantas expuestas a insolación directa y que recibieron riego presentaron la mayor acumulación nocturna de ácidos orgánicos ($24,52 \pm 0,34 \text{ mmol } H^+/\text{m}^2$; Fig. 1). La acumulación nocturna más baja de ácidos orgánicos (59% menor

Tabla 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.

Table 1. Two-way ANOVA of the response to the nocturnal accumulation of titratable acidity and superficial temperature in *Tillandsia makoyana* under the shade or exposed to direct solar radiation after exposure to two irrigation conditions.

	G.L.	Acidez titulable		Temperatura superficial	
		F	P	F	P
Luz	2	157,971	< 0,001	642359	< 0,001
Riego	1	912,013	< 0,001	19,827	< 0,001
Luz \times Riego	2	62,754	< 0,001	1,132	0,350

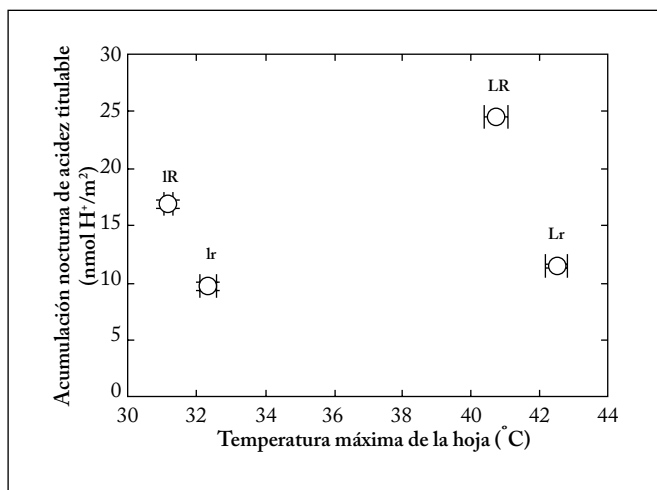


Fig. 1. Acumulación nocturna de acidez titulable y temperatura máxima superficial de *Tillandsia makoyana* en respuesta al riego y a la exposición a la luz solar. Los datos se muestran como promedio \pm E.E. ($n = 5$ individuos) para plantas que recibieron insolación directa (L) o que estaban bajo sombra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

Fig. 1. Nocturnal accumulation of titratable acidity and maximum superficial temperature of *Tillandsia makoyana* in response to irrigation and exposure to solar radiation. Data are the means \pm S.E. ($n = 5$ individuals) for plants that received direct solar radiation (L), or were shaded (I), and were either irrigated (R) or not (r).

que la más alta) fue observada en las plantas mantenidas a la sombra y sin riego (Fig. 1).

La temperatura superficial de las hojas también respondió a la exposición a la luz y al riego (Tabla 1). En este caso la mayor exposición y la falta de riego resultaron en la temperatura más alta ($42,2 \pm 0,3$ °C), mientras que la menor temperatura ($31,2 \pm 0,1$ °C), se obtuvo en las 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 expuestos 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 presentaron un mejor desempeño que aquellas bajo sombra, debido a que un aumento en el índice de área foliar en el dosel durante la época de lluvias causa que la disponibilidad de luz en el mismo sea relativamente baja en Chamela, pudiendo alcanzar solo entre 20 y 30% del flujo de fotones fotosintéticos máximo (Nobel y de la Barrera, 2004).

Además de que la precipitación es 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 disminuyendo rápidamente su actividad fotosintética en respuesta a la sequía. Esto se puede deber al cierre de los estomas mediado por el ácido giberélico (Acevedo et al., 1983; Stancantoa et al., 2001; Graham y Andrade, 2004). Paralelamente, estas plantas son capaces de recuperar rápidamente su función fisiológica cuando el agua vuelve a estar disponible. Por ejemplo, el cactus hemiepífito *H. undatus* expuesto a una sequía de dos semanas recupera su tasa máxima de intercambio gaseoso 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 (Hartssock 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 dicho flujo apenas produjo un incremento en la acumulación ΔH^+ de 33% en plantas con riego y de 16% en plantas con sombra. En contraste, para *T. usneoides* la máxima ΔH^+ ocurre bajo 125 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 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 su adaptación a los niveles de luz presentes en la parte media del dosel donde habita (Reyes-García y Griffiths, 2009).

En este estudio se confirmó que las plantas epífitas, como *Tillandsia makoyana*, responden de manera muy rápida a la disponibilidad de agua. Futuras investigaciones deberían considerar a otras especies, como *T. rothii* que crece en las partes más externas del dosel o *Achmea bracteata* de hábito terrestre. Esto permitiría 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 esta investigación y al doctor Mauricio Quesada por discusiones que enriquecieron este trabajo. Este estudio 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.

REFERENCIAS

- Acevedo, E., I. Badilla y P.S. Nobel (1983). Water relations, diurnal acidity changes, and productivity of a cultivated cactus, *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiology* 72: 775-780.
- Andrade, J.L. y P.S. Nobel (1997). Microhabitats and Water Relations of Epiphytic Cacti and Ferns in a Lowland Neotropical Forest. *Biotropica* 29: 261-270.
- Andrade, J.L. (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, J.L., E.A. Graham y G. Zotz (2004). Determinantes morfofisiológicos y ambientales de la distribución de epifitas en el dosel de bosques tropicales. En: Marino-Cabrera H. (Ed), pp. 139-156. Fisiología ecológica en plantas. Mecanismos y respuestas a estrés en los ecosistemas Ediciones Universitarias de Valparaíso, Valparaíso, Chile.
- Andrade, J.L., E. de la Barrera, C. Reyes-García, M.F. Ricalde, G. Vargas-Soto y J.C. Cervera (2007). El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad, fisiología ambiental y productividad. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 81: 37-50.
- Benzing, D.H. (1987). Vascular Epiphytism-Taxonomic Participation and Adaptive Diversity. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 74: 183-204.
- Bravo, C. y A. Hernández (2011). Reseña del huracán "Jova" del Océano Pacífico, Servicio Meteorológico Nacional. Disponible en <http://smn.cna.gob.mx/ciclones/tempo2011/pacifico/Jovap11.pdf> (consultado el 26 de marzo de 2012).
- Bullock, S.H. (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., A.R. López-Ferrari, I. Ramírez-Morillo, B.K. Holst, H.E. Luther y W. Till (2004). Checklist of Mexican Bromeliaceae with notes on species distribution and levels of endemism. *Selbyana* 25: 33-86.
- García-Oliva, F., A. Camou y J.M. Maas (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.), pp. 3-10. Historia Natural de Chamela. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Graham, E.A. y J.L. Andrade (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, T.L. y P.S. Nobel (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, C.E., C.A. Eades y R.A. Pitner (1986). Effects of Irradiance on Crassulacean Acid Metabolism in the Epiphyte *Tillandsia usneoides* L. (Bromeliaceae). *Plant Physiology* 80: 23-26.
- Murphy, P.G. y A.E. Lugo (1986). Ecology of tropical dry forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17: 67-88.
- Nobel, P.S. y E. de la Barrera (2002). Stem water relations and net CO₂ uptake for a hemiepiphytic cactus during short-term drought. *Environmental and Experimental Botany* 48: 129-137.
- Osmond, C.B., W.W. Adams III y S.D. Smith (1994). Crassulacean acid metabolism. En: Pearcy R.W., Ehleringer J.R., Mooney H.A. y Rundel P.W. (eds.), pp. 255-280. *Plant Physiological Ecology. Field Methods and Instrumentation*. Chapman y Hall, London.
- Reyes-García, C., H. Griffiths, E. Rincón y P. Huante (2008). Niche differentiation in tank and atmospheric bromeliads of a seasonally dry forest. *Biotropica* 40: 168-175.
- Reyes-García, C. y H. Griffiths (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.), pp. 120-141. *Perspectives in Biophysical Plant Ecophysiology: A Tribute to Park S. Nobel*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Reyes-García, C., M. Mejía-Chang y H. Griffiths (2011). High but not dry: diverse epiphytic bromeliad adaptations to exposure within a seasonally dry tropical forest community. *New Phytologist* 193: 745-754.
- Stancatoa, G.C., P. Mazzafera y M.S. Buckeridg (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: 1009-1016.
- Zotz, G. (2004). How prevalent is crassulacean acid metabolism among vascular epiphytes? *Oecologia* 138: 184-192.