

FOTOSÍNTESIS ESTACIONAL EN PLANTAS JÓVENES DE *Agave tequilana*

SEASONAL PHOTOSYNTHESIS IN YOUNG PLANTS OF *Agave tequilana*

Eulogio Pimienta-Barrios¹, Julia Zañudo-Hernández¹ y Javier García-Galindo²

¹Departamento de Ecología. CUCBA. Universidad de Guadalajara. Km 15.5 Carretera Guadalajara-Nogales. 45110. Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jalisco, México. (epimient@cucba.udg.mx).

²Departamento de Campo. Consejo Regulador del Tequila. Hércules 2169. Fraccionamiento Jardines del Bosque, Guadalajara, Jalisco.

RESUMEN

Los estudios sobre el efecto del medio en la fotosíntesis en plantas jóvenes de *Agave tequilana* son escasos, aunque estas plantas ocupan una tercera parte de la superficie cultivada en el estado de Jalisco, México. Se estudió el efecto de la variación estacional en la irradiancia, temperatura del aire, humedad relativa del aire, y el estado de agua en la fotosíntesis en plantas jóvenes de *A. tequilana* durante 2001 y 2002. El diseño experimental fue bloques completos al azar y los tratamientos fueron las diferentes fechas de medición de fotosíntesis de enero 2001 a noviembre 2002. La asimilación de CO₂ ocurrió durante los meses secos (enero a mayo) y húmedos del año (julio a octubre) y los valores mayores de asimilación neta diaria de CO₂ coincidieron con temperaturas frescas día/noche y alta irradiancia. La asimilación nocturna de CO₂ fue acompañada por asimilación positiva de CO₂ durante el día. Ambas mostraron una mayor relación con la temperatura que con la humedad relativa. La succulencia del tejido fotosintético, junto con la asimilación durante el día y nocturna de CO₂, fueron determinantes para mantener la ganancia de carbono en *A. tequilana* durante el año, en particular durante el periodo seco.

Palabras clave: *Agave tequilana*, metabolismo MAC, plasticidad fotosintética, succulencia.

INTRODUCCIÓN

El agave azul (*Agave tequilana*) Weber es uno de los cultivos más importantes en el Estado de Jalisco, debido a la creciente demanda de tequila, por lo cual se ha incrementado la superficie cultivada de *A. tequilana*. En 2005 se registró una superficie de 80 000 ha, de la cual 35% está ocupada por plantas jóvenes (uno a tres años), y el resto por plantas con edades superiores a cuatro años (Consejo Regulador del Tequila, CRT, 2005). Una parte importante de la superficie cultivada de plantas jóvenes crece en condiciones climáticas diferentes a las regiones tradicionales de cultivo de *A. tequilana*

ABSTRACT

Studies of the effects of the environment on the photosynthesis of young plants of *Agave tequilana* are scarce, although these plants occupy one third of the cultivated surface in the State of Jalisco, México. The effect of the seasonal variation on irradiance, air temperature and relative humidity and plant water status in the photosynthesis of young plants of *A. tequilana* was studied during 2001 and 2002. The experimental design was randomized complete blocks and the different dates of measurements of photosynthesis, from January 2001 to November 2002, were considered as the treatments. Net CO₂ uptake occurred during both dry (January to May) and wet months (July to October) of the year, and the higher values of daily net CO₂ uptake coincided with cool daytime/nighttime air temperature and the highest values of irradiance. Night uptake of CO₂ was accompanied by positive CO₂ assimilation during the day. Both showed a greater relationship with temperature than with relative humidity. The succulence of the photosynthetic tissue, and both the night and the day net CO₂ uptake were determinant to maintain carbon gain in *A. tequilana* throughout the year, particularly during the dry season.

Key words: *Agave tequilana*, CAM metabolism, photosynthetic plasticity, succulence.

INTRODUCTION

Blue agave (*Agave tequilana*) Weber is one of the most important crops in the State of Jalisco, because of the growing demand of tequila, consequently the cultivated surface of this crop has increased. In 2005, a surface of 80 000 ha was registered, 35% of which is occupied by young plants (one to three years), and the rest by plants over four years of age (Consejo Regulador del Tequila, CRT, 2005). An important part of the cultivated surface of young plants grows under climatic conditions that differ from those of the traditional regions for the crop in Jalisco and neighboring zones of denominational origin where it is grown.

The climatic differences, particularly temperature and humidity, can affect fundamental processes such as photosynthesis and respiration. The CAM (Crassulacean

Recibido: Octubre, 2005. Aprobado: Agosto, 2006.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 40: 699-709. 2006.

en Jalisco y Estados circunvecinos en la zona de denominación de origen.

Las diferencias climáticas, particularmente la temperatura y la humedad, pueden afectar procesos fundamentales como la fotosíntesis y la respiración. Las plantas MAC (Metabolismo Ácido de las Crasuláceas) como *Opuntia ficus-indica* y *Stenocereus queretaroensis* crecen en lugares donde se desarrolla *A. tequilana*, reducen la fotosíntesis e incrementan la respiración con las temperaturas altas durante la época seca del año (marzo-mayo) (Pimienta-Barrios *et al.*, 2000). Los estudios del efecto del medio (i.e. temperatura, irradiancia, humedad del suelo) en la fotosíntesis en *A. tequilana* en el campo se han realizado en plantas maduras (Pimienta-Barrios *et al.*, 2001). Estos estudios en plantas jóvenes de *A. tequilana* sólo se han efectuado en condiciones controladas (Nobel *et al.*, 1998).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la variación fotosintética estacional de plantas jóvenes de *A. tequilana* en respuesta a los cambios estacionales de luminosidad, temperatura y humedad relativa del aire, y el estado del agua en el suelo y en las hojas, con el fin de determinar cuál es el factor que más afecta la fotosíntesis. La hipótesis fue que las plantas jóvenes de *A. tequilana* presentan una menor capacidad de mantener la fotosíntesis en los meses secos del año, en comparación con plantas adultas, ya que las primeras tienen un menor desarrollo de la succulencia y una menor disponibilidad de agua para mantener la fotosíntesis.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio

Este estudio se efectuó de enero de 2001 a noviembre de 2002 en el campo experimental del Departamento de Ecología de la Universidad de Guadalajara en Las Agujas, Zapopan, en la parte central del Estado de Jalisco, México, a 20° 5' N, 103° 32' O, y a 1420 m de altitud. El clima es subtropical, la precipitación pluvial media anual es 1104 mm, y la temperatura media anual es 19.5 °C (Medina-García *et al.*, 1998).

Datos climáticos y microclimáticos

Los datos de precipitación pluvial y temperaturas durante el experimento se obtuvieron de la Quinta Base Aérea Militar Mexicana, localizada a 10 km del sitio de estudio. En las fechas en que se realizaron las mediciones de fotosíntesis, el flujo de fotones para la fotosíntesis (FFF, longitudes de onda 400 a 700 nm) se registró cada hora desde la salida hasta la puesta del sol, con un sensor cuántico (LI-COR, Lincoln, NE, USA). Con estos valores se obtuvo un área diurna de FFF, y con el uso de integrales se calculó el valor diario de FFF. También se registró la temperatura del aire y la humedad relativa cada hora, usando un medidor digital (RadioShack, Los Angeles, CA, USA).

Acid Metabolism) plants such as *Opuntia ficus-indica* and *Stenocereus queretaroensis*, grow in places where *A. tequilana* is developed, reduce photosynthesis and increase respiration with high temperatures during the dry season of the year (March-May) (Pimienta-Barrios *et al.*, 2000). Studies of the effect of the environment (i.e. temperature, irradiance, soil moisture) on photosynthesis in *A. tequilana* in the field, have been conducted in mature plants of this species (Pimienta-Barrios *et al.*, 2001). However, studies of young plants *A. tequilana* have only been realized in controlled conditions (Nobel *et al.*, 1998).

The objective of the present study was to evaluate the seasonal photosynthetic variation of young plants of *A. tequilana* in response to the seasonal changes of irradiance, temperature and relative humidity of the air, and the water status in the soil and in the leaves, in order to determine which is the factor or factors that have the greatest effect on photosynthesis. The hypothesis was that the young plants of *A. tequilana* present a lower capacity of maintaining photosynthesis during the dry months of the year, compared with adult plants, given that the former have a lower development of succulence and lower availability of water for maintaining photosynthesis.

MATERIALS AND METHODS

Study site

The study was performed from January of 2001 to November of 2002 in the experimental field of the Ecology Department of the Universidad de Guadalajara in Las Agujas, Zapopan, in the central part of the State of Jalisco, México, at 20° 5' N, 103° 32' W, and at 1420 m altitude. The climate is subtropical, with a mean annual pluvial precipitation of 1104 mm, and mean annual temperature of 19.5 °C (Medina-García *et al.*, 1998).

Climatic and microclimatic data

The data of rainfall and temperature during the experiment were obtained from the Quinta Base Aérea Militar Mexicana, located 10 km from the study site. On the dates when the photosynthesis measurements were made, the flow of photons for photosynthesis (FPP, wavelengths 400 to 700 nm) was recorded hourly from sunrise to sunset, with a quantum sensor (LI-COR, Lincoln, NE, USA). With these values, a daytime area of FPP was obtained, and with the use of integrals, the daily FPP value was calculated. In addition, the air temperature and relative humidity were registered every hour, using a digital meter (RadioShack, Los Angeles, CA, USA).

Establishment of the experiment

The plants (daughter plants) of *A. tequilana* were collected from a plantation of four years in the municipality of Arenal, Jalisco, on

Establecimiento del experimento

Las plantas (hijuelos) de *A. tequilana* usadas se recolectaron de una plantación de cuatro años en el municipio de Arenal, Jalisco, el 10 de noviembre de 2000. Cien hijuelos de tres años de edad fueron trasplantados el 19 de noviembre en recipientes de plástico (19 L) con suelo proveniente del sitio donde se recolectaron las plantas. Este suelo tiene textura franco-arenosa, pH 5.6, y 3.1% materia orgánica.

Mediciones de fotosíntesis

Las tasas instantáneas de asimilación de CO₂ se registraron cada 2 h en periodos de 24 h con un sistema portátil para medir fotosíntesis (LI-COR LI-6200), en seis hojas de diferentes plantas. Estas mediciones se hicieron en 2001: 11-12 de enero; 25-26 de mayo; 29-30 de junio; 27-28 de julio; 31 de agosto-01 de septiembre; 27-28 de septiembre; 25-26 de octubre; y 22-23 de noviembre. En 2002: 31 de enero-01 de febrero; 21-22 de marzo; 30-31 de mayo; 10-11 de julio; 20-21 de septiembre; 15-16 de noviembre. La cámara original para registrar el intercambio de gases de 0.25 L se modificó para registrar la asimilación instantánea de CO₂; fue reemplazada la forma que representa la mitad de un cilindro y la otra mitad de forma rectangular fue cubierta con una lámina de plástico de acrílico, en uno de sus extremos se dejó una abertura de 2×4 cm y en sus bordes se colocó una cinta de hule espuma. Al realizar las mediciones esta abertura fue presionada con la superficie adaxial de las hojas suculentas de *A. tequilana*. Los valores de asimilación neta diaria de CO₂ se obtuvieron al calcular con integrales el área de valores positivos de asimilación (tasas de asimilación instantánea arriba de cero) y de asimilación negativa (tasas de asimilación instantánea debajo de cero). A los valores de ganancia positiva se les restan los valores negativos para obtener la ganancia neta de asimilación de CO₂ en 24 h.

Potencial hídrico del suelo y las hojas

El potencial hídrico (Ψ) de las hojas se determinó con un potenciómetro de rocío WP4 (Decagon Devices, Pullman, WA, USA) en cinco segmentos de la hoja de 1.1 cm × 3 cm. El Ψ del suelo se midió en 5 g de suelo recolectado en la rizosfera a una profundidad de 10 a 20 cm. Ambas mediciones se efectuaron sólo en el 2002, a la par con las mediciones de fotosíntesis.

Análisis estadístico

Se usó un diseño experimental de bloques completos al azar, en el cual los tratamientos fueron las diferentes fechas de medición de fotosíntesis. Los datos se analizaron con A de V jerárquico (Zar, 1999); los promedios fueron separados por la prueba de diferencia mínima significativa (DMS) (Little y Hill, 1975). Se realizó un análisis de correlación para evaluar las relaciones entre las tasas instantáneas de asimilación de CO₂ con la temperatura y la humedad relativa del aire (Zar, 1999). Los resultados se presentan como promedio de 6 observaciones \pm error estándar.

November 10 of 2000. One hundred daughter plants three years old were transplanted on November 19 in plastic containers (19 L) with soil from the site where the plants were collected. This soil has a loam-sandy texture, pH 5.6, and 3.1% organic matter.

Measurements of photosynthesis

The instantaneous rates of net CO₂ were measured every 2 h over 24 h with a portable photosystem (LI-COR LI-6200), in six leaves of different plants. These measurements were made in 2001: January 11-12; May 25-26; June 29-30; July 27-28; August 31-September 1; September 27-28; October 25-26; and November 22-23. In 2002: January 31-February 01; March 21-22; May 30-31; July 10-11; September 20-21; November 15-16. The leaf chamber of 0.25 L for registering the instantaneous rates of CO₂ uptake was modified by replacing the distal half cylinder, and the other rectangular half was covered with a plastic acrylic sheet, leaving an opening of 2×4 cm, and foam rubber tape was placed on its rim. When the measurements were made, this opening was pressed with the adaxial surface of the succulent leaves of *A. tequilana*. The daily net CO₂ uptake values were obtained by calculating with integrals the area of positive assimilation values (instantaneous rates of CO₂ uptake above zero) and of negative assimilation (instantaneous rates of CO₂ uptake below zero). The negative values of CO₂ uptake are subtracted from the positive values to obtain the net gain of CO₂ uptake in 24 h.

Water potential of the soil and leaves

The water potential (Ψ) of the leaves was determined with a WP4 dew potentiometer (Decagon Devices, Pullman, WA, USA) in five segments of the leaf of 1.1 cm × 3 cm. The Ψ of the soil was measured in 5 g of soil collected in the rhizosphere at a depth of 10 to 20 cm. Both measurements were recorded in 2002 only, along with the measurements of photosynthesis.

Statistical analysis

An experimental design of randomized complete blocks was used, in which the treatments were the different dates of measurement of photosynthesis. The data was analyzed with a hierarchical ANOVA (Zar, 1999); the means were separated by a minimum significant difference test (MSD) (Little and Hill, 1975). Correlation analyses were used to test for relations between the rates of instantaneous CO₂ uptake with the temperature and relative humidity of the air (Zar, 1999). Data are presented as the means of 6 observations \pm standard error.

RESULTS

In 2001, the monthly daily averages of the extreme temperatures oscillated between 7.5 and 17 °C during the night, 25 and 34 °C during the day; in 2002 between 5 and 17 °C and 24 and 34 °C at night and day; the warmest months were April and May for 2001 and 2002. The coldest nights occurred in January,

RESULTADOS

En 2001 los promedios mensuales diarios de las temperaturas extremas oscilaron entre 7.5 y 17 °C durante la noche, 25 y 34 °C durante el día; en 2002 entre 5 y 17 °C y 24 y 34 °C en la noche y el día; los meses más cálidos fueron abril y mayo para el 2001 y 2002. Las noches más frías ocurrieron en enero, noviembre, diciembre y marzo en 2001; y enero y diciembre en 2002 (Figuras 1a y 2a). El periodo de lluvias en 2001 empezó en mayo y terminó en octubre (Figura 1a); en 2002 las primeras lluvias se registraron en enero, se reanudaron en mayo y terminaron en noviembre (Figura 2a). El total de precipitación pluvial fue 930 mm en 2001 y 1218 mm en 2002. Los mayores valores de FFF en 2001 se registraron entre enero y mayo, y el promedio mensual mayor o superior a 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en mayo; éstos disminuyeron durante el periodo de lluvias, y aumentaron gradualmente durante el otoño (Figura 1b). Para 2002, los valores superiores a 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, ocurrieron de abril a junio y disminuyeron progresivamente hasta diciembre (Figura 2b).

En el Cuadro 1 se presentan los resultados de dos años de evaluación de la respuesta fotosintética estacional en plantas jóvenes de *A. tequilana*. Los

November, December and March in 2001; and January and December in 2002 (Figures 1a and 2a). The rainy season in 2001 began in May and ended in October (Figure 1a); in 2002 the first rains occurred in January, returning in May and ended in November (Figure 2a). Total rainfall was 930 mm in 2001 and 1218 mm in 2002. The FPP reached its highest values in 2001 during January-May, and the monthly average greater or higher than 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in May; these decreased during the period of rains, and gradually increased during the fall (Figure 1b). For 2002, the values higher than 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, occurred from April to June and progressively decreased thereafter until December (Figure 2b).

Table 1 shows the results of two years of evaluation of the seasonal photosynthetic response in young plants of *A. tequilana*. The highest values of positive assimilation of CO_2 were registered at night, and this carbon gain was higher than 70% on most of the measurement dates. During the day, the positive assimilation of CO_2 was lower than at night, and the contribution to the daily carbon gain varied from 7 to 44%, although on most of the measurement dates it was close to or higher than 30% (Table 1). The highest values of daily net CO_2 uptake in 24 h in 2001 ($644 \text{ mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$) occurred in October of

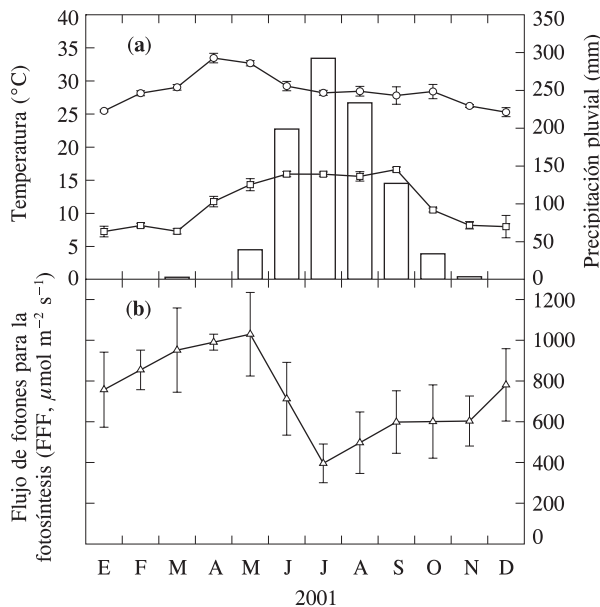


Figura 1. Temperatura media mensual máxima (○) y mínima (□); precipitación pluvial (barras) (a) y promedio mensual de flujo de fotones para la fotosíntesis (b) en Las Agujas, Zapopan, Jalisco.

Figure 1. Maximum mean monthly temperature (○) and minimum (□); rainfall (bars) (a) and monthly average of photon flow for photosynthesis (b) in Las Agujas, Zapopan, Jalisco.

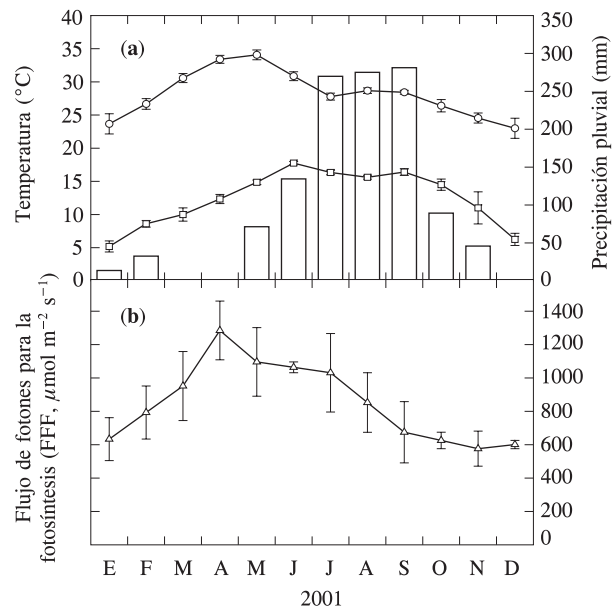


Figura 2. Temperatura promedio mensual máxima (○) y mínima (□); precipitación pluvial (barras) (a) y promedio mensual de flujo de fotones para la fotosíntesis (b) en Las Agujas Zapopan, Jalisco.

Figure 2. Maximum average monthly temperature (○) and minimum (□); total monthly rainfall (bars) (a) and monthly average of photon flow for photosynthesis (b) in Las Agujas, Zapopan, Jalisco.

Cuadro 1. Relación entre la variación estacional en el flujo de fotones para la fotosíntesis (FFF), temperatura del aire día/noche, con los periodos positivos de asimilación de CO₂ durante el día/noche, tasas más alta de asimilación instantánea de CO₂, y asimilación positiva de CO₂ durante el día y la noche en plantas jóvenes de *Agave tequilana* durante 2001 y 2002, en Las Agujas, Zapopan, Jalisco.

Table 1. Relationship among the seasonal variation in the flow of photons for photosynthesis (FPP), day/night air temperature, with the positive periods of CO₂ assimilation during the day and night in young plants of *Agave tequilana* during 2001 and 2002, in Las Agujas, Zapopan, Jalisco.

| Fecha de medición | Flujo de fotones para la fotosíntesis (FFF) (mol m ⁻² d ⁻¹) | Promedio de la temperatura día/noche (°C/°C) | Periodos de asimilación neta de CO ₂ positiva (h) | | | Tasa más alta de asimilación instantánea de CO ₂ (μmol m ⁻² s ⁻¹) | Asimilación positiva de CO ₂ (mmol m ⁻² d ⁻¹) | | |
|------------------------------|--|--|--|-----|-------|---|---|-------|-------|
| | | | Noche | Día | Total | | Noche | Día | Total |
| | | | 11-12 enero 2001 | 29 | 21/11 | | 11.5 | 5.5 | 17 |
| 25-26 mayo 2001 | 55 | 27/18 | 9.5 | 6.5 | 16 | 13.5 | 396ab | 171b | 567b |
| 29-30 junio 2001 | 63 | 25/16 | 9.0 | 7.0 | 16 | 10.7 | 314bc | 188b | 502bc |
| 27-28 julio 2001 | 19 | 20/17 | 8.5 | 7.0 | 16 | 9.2 | 242cd | 32c | 274d |
| 31 agosto-01 septiembre 2001 | 32 | 23/17 | 9.0 | 7.0 | 16 | 14.3 | 345bc | 141ab | 486bc |
| 27-28 septiembre 2001 | 29 | 22/15 | 9.5 | 6.5 | 16 | 11.7 | 267c | 146ab | 513bc |
| 25-26 octubre 2001 | 42 | 25/17 | 10.0 | 6.0 | 16 | 16.2 | 411a | 233a | 644a |
| 22-23 noviembre 2001 | 42 | 19/7 | 10.5 | 5.5 | 16 | 12.0 | 371b | 88bc | 459bc |
| 31 enero-01 febrero 2002 | 44 | 23/13 | 12.0 | 5.0 | 17 | 10.3 | 394ab | 133ab | 527bc |
| 21-22 marzo 2002 | 45 | 24/17 | 11.5 | 5.5 | 17 | 13.5 | 446a | 112bc | 558b |
| 30-31 mayo 2002 | 52 | 28/19 | 11.0 | 3.0 | 14 | 6.8 | 172d | 13d | 185e |
| 10-11 julio 2002 | 50 | 23/18 | 9.5 | 6.5 | 16 | 8.3 | 328bc | 137ab | 465bc |
| 20-21 septiembre 2002 | 29 | 22/17 | 8.0 | 8.5 | 16.5 | 7.6 | 213cd | 167b | 380c |
| 15-16 noviembre 2002 | 25 | 17/10 | 11.0 | 5.5 | 16.5 | 5.4 | 279c | 88bc | 367c |

Medias con letras diferentes en una columna son diferentes ($p \leq 0.05$).

valores mayores de asimilación positiva de CO₂ se registraron en la noche, y esta ganancia de carbono fue superior a 70% en la mayoría de las fechas de medición. Durante el día la asimilación positiva de CO₂ fue menor que en la noche, y la contribución a la ganancia diaria de carbono varió de 7 a 44 %, aunque en la mayoría de las fechas de medición fue cercano o superior a 30% (Cuadro 1). El mayor valor de asimilación neta diaria de CO₂ en 24 h en 2001 (644 mmol m⁻² d⁻¹), se registró en octubre de 2001, con temperaturas promedio día/noche de 25/17 °C, y un FFF de 42 mol m⁻² d⁻¹. En 2002 el valor mayor de asimilación neta diaria de CO₂ (558 mmol m⁻² d⁻¹) ocurrió al inicio de la primavera (marzo), coincidente con temperaturas promedio día/noche de 24/17 °C, y un FFF de 45 mol m⁻² d⁻¹. Los valores más bajos de asimilación neta diaria en 2001 se presentaron en julio (274 mmol m⁻² d⁻¹), coincidiendo con uno de los valores más bajos de luminosidad (19 mol m⁻² d⁻¹), y con temperaturas frescas durante el día (20 °C), pero no en la noche (17 °C). En 2002 el valor más bajo de asimilación neta diaria de CO₂ (185 mmol m⁻² d⁻¹), ocurrió al final de mayo, con el valor más alto de luminosidad (52 mol m⁻² d⁻¹) y temperaturas promedio cálidas día/noche (28/19 °C). Las tasas de asimilación instantánea de CO₂ oscilaron entre 7.5 y 16.2 μmol m⁻² s⁻¹ en 2001, y 5.4 a 13.5 μmol m⁻² s⁻¹ en 2002. En 2001 las tasas de

2001, coinciding with average day/night temperatures of 25/17 °C, and an FPP of 42 mol m⁻² d⁻¹. In 2002 the highest value of daily net CO₂ uptake (558 mmol m⁻² d⁻¹) occurred at the onset of spring (March), coinciding with average day/night temperatures of 24/17 °C, and an FPP of 45 mol m⁻² d⁻¹. The lowest values of daily net uptake in 2001 occurred in July (274 mmol m⁻² d⁻¹), coinciding with one of the lowest values of irradiance (19 mol m⁻² d⁻¹), and with fresh temperatures during the day (20 °C), but not at night (17 °C). In 2002 the lowest value of daily net CO₂ uptake (185 mmol m⁻² d⁻¹), was lower than in 2002 and occurred at the end of May, matching with the highest value of irradiance (52 mol m⁻² d⁻¹) and warm average day/night temperatures (28/19 °C). The instant uptake rates of CO₂ fluctuated between 7.5 and 16.2 μmol m⁻² s⁻¹ in 2001, and 5.4 to 13.5 μmol m⁻² s⁻¹ in 2002. In 2001 the instant uptake rates were higher than in 2002, given that in most months they were higher than 10 μmol m⁻² s⁻¹, but in 2002, they surpassed this value in only two months. The highest instant CO₂ uptake rates do not concur with the highest daily net CO₂ uptake (Table 1).

Total periods of daily net positive assimilation of CO₂ varied from 14 to 17 h, with longer duration in the night. The periods of positive assimilation in 2001 during the night varied from 8.5 h (July) to 11.5 (January), and in 2002 from 8.0 h (September) to 12.0

asimilación instantánea fueron mayores que en 2002, ya que en la mayoría de los meses fueron superiores a $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, pero en 2002 sólo en dos meses fueron superiores a este valor. Las tasas más altas de asimilación instantánea CO_2 no concuerdan con los valores más altos de asimilación neta diaria de CO_2 (Cuadro 1).

Los periodos totales de asimilación neta diaria de CO_2 positiva variaron de 14 h a 17 h, siendo de mayor duración durante la noche. Los periodos de asimilación positiva en 2001 durante la noche oscilaron desde 8.5 h (julio) hasta 11.5 h (enero), y en 2002 de 8.0 h (septiembre) a 12.0 h (enero). Durante el día, los periodos de asimilación positiva fueron menores, y para 2001 el más bajo fue 5.5 h a mediados de enero y los mayores (7 h) al final de junio, julio y agosto. Para 2002, se registró el periodo menor de asimilación positiva durante el día (3 h) al final de mayo y el mayor (8.5) en septiembre (Cuadro 1).

En las Figuras 3 y 4 se presentan los patrones de asimilación en periodos de 24 h, en diferentes fechas durante 2001 y 2002. En la mayoría de las fechas de medición los periodos positivos de asimilación son comunes al final de la tarde, continúan durante la noche y se prolongan durante las primeras horas de la mañana. Durante el día la mayor ganancia de carbono se registró al final de la tarde, y ésta fue mayor que la registrada en las primeras horas de la mañana. Esto fue más evidente en junio y de agosto a noviembre de 2001, y en enero, julio, septiembre y noviembre de 2002. En algunos meses de 2001 las tasas instantáneas mayores se registraron al final de la tarde, particularmente desde mediados del verano al inicio del otoño de 2001 (de agosto a octubre); en el 2001 se observó sólo en enero. De 10 a 16 h fue común observar tasas negativas de asimilación de CO_2 en las fechas de medición (Figuras 3 y 4).

Los valores menores de Ψ en el suelo se registraron en la estación seca (invierno y primavera), alcanzaron el valor más bajo en mayo (-25.0 MPa) y los más altos durante el verano en julio, septiembre y noviembre (-0.02 , -0.03 , y 0.05 MPa). En las hojas el Ψ tuvo menos variación que en el suelo, y no hubo diferencias estadísticas significativas entre la mayoría de los meses, con excepción del valor registrado en mayo que fue el más bajo (-1.02 MPa; Figura 5).

Los análisis de correlación entre las tasas instantáneas de asimilación neta de CO_2 con la temperatura y la humedad relativa mostraron relación positiva con la humedad relativa sólo en 2002 ($r=0.650$; $p \leq 0.05$; Figura 6a, b). En contraste, las tasas instantáneas de asimilación neta de CO_2 mostraron relación negativa con la temperatura ($r=-0.670$, $p \leq 0.05$ para 2001; $r=-0.711$, $p \leq 0.05$ para 2002; Figura 7a, b).

h (November). During the day, the periods of positive assimilation were shorter, and for 2001 the shortest was 5.5 h at the middle of January and the longest (7 h) at the end of June, July and August. For 2002, the shortest period of positive assimilation was registered during the day (3 h) at the end of May and the longest (8.5) in September (Table 1).

Figures 3 and 4 shows the assimilation pattern in periods of 24 h, on different dates during 2001 and 2002. In most of the measurement dates, the positive assimilation periods are common in the late afternoon, continue during the night and are prolonged during the early morning. During the day, the highest carbon gain was registered in late afternoon, and was higher than the values of carbon gain recorded in the early morning. This was more evident in June and from August to November of 2002. In some months of 2001, the highest rates of instantaneous CO_2 were recorded in late afternoon, especially from midsummer to the start of autumn of 2001 (from August to October); in 2001 it was observed in January only. From 10 to 16 h it was common to observe negative rates of net CO_2 on the measurement dates (Figures 3 and 4).

The lowest values of Ψ in the soil were registered in the dry season (winter and spring), reaching the lowest value in May (-25.0 MPa) and the highest values during the summer in July, September and November (-0.02 , -0.03 , and 0.05 MPa). In the leaves, the Ψ had less variation than in the soil, and these were statistically similar among most of the months, with the exception of the value registered in May, which observed the lowest values (-1.02 MPa; Figure 5).

The correlation analysis between the instantaneous rates of net CO_2 uptake with the temperature and relative humidity revealed a positive relation with relative humidity only in 2002 ($r=0.650$; $p \leq 0.05$; Figure 6a, b). In contrast, the instant rates of net CO_2 uptake showed a negative relation with the temperature ($r=-0.670$, $p \leq 0.05$ for 2001; $r=-0.711$, $p \leq 0.05$ for 2002; Figure 7a, b).

DISCUSSION

CAM plants such as *A. tequilana* avoid the physiological damages (*i.e.* reduction in the efficiency of photosystem II, deterioration of the metabolism of the proteins and the synthesis of aminoacids), caused by drought through a mechanism called desiccation delay response (Tyree *et al.*, 2002). This is expressed through the nocturnal assimilation of CO_2 , thick cuticle, low stomatal frequency and succulence; the latter allows the continuous movement of stored water

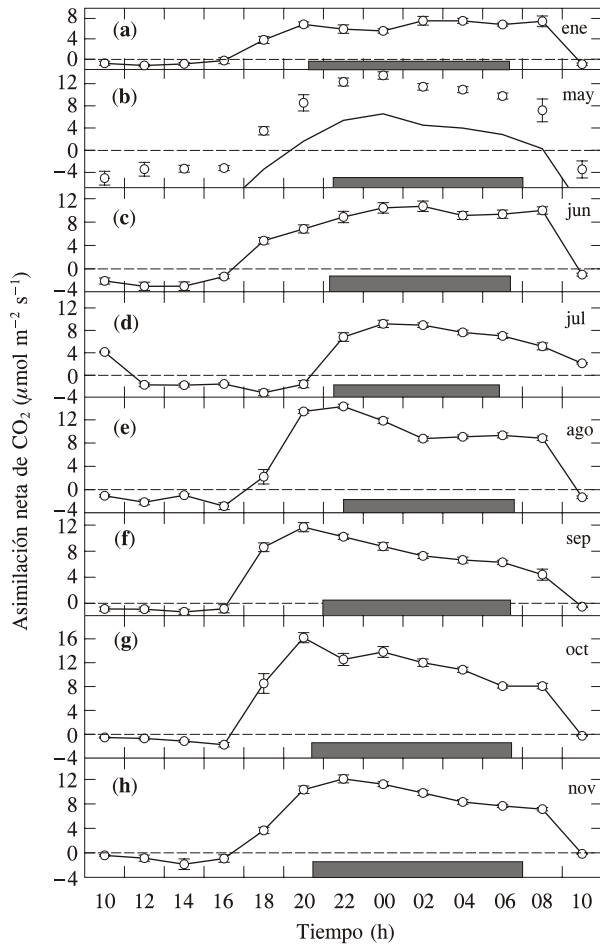


Figura 3. Asimilación neta de CO₂ durante 24 h en plantas jóvenes de *Agave tequilana* el 11-12 de enero de 2001 (a); 25-26 de mayo de 2001 (b); 29-30 de junio de 2001 (c); 27-28 de julio de 2001 (d); 31 de agosto - 01 de septiembre de 2001 (e); 27-28 de septiembre (f); 25-26 de octubre de 2001 (g); 22-23 de noviembre de 2001 (h). Los datos se presentan como promedio ± error estándar (n=6). Las barras rellenas indican el periodo de oscuridad.

Figure 3. Net CO₂ uptake over 24 h in young plants of *Agave tequilana* on January 1-12, 2001 (a); May 25-26, 2001 (b); June 29-30, 2001 (c); July 27-28, 2001 (d); August 31 - September 01, 2001 (e); September 27-28 (f); October 25-26, 2001 (g); November 22-23, 2001 (h). The data are presented as means ± standard error (n=6). Hatched bars indicate the nighttimes.

DISCUSIÓN

Las plantas MAC como *A. tequilana* evitan los daños fisiológicos (*i.e.* reducción en la eficiencia del fotosistema II, deterioro del metabolismo de las proteínas y la síntesis de aminoácidos), causados por la sequía a través de un mecanismo denominado retraso en la desecación (Tyree *et al.*, 2002). Éste se expresa mediante la asimilación nocturna de CO₂, cutículas gruesas, baja frecuencia de estomas y succulencia; esta última permite

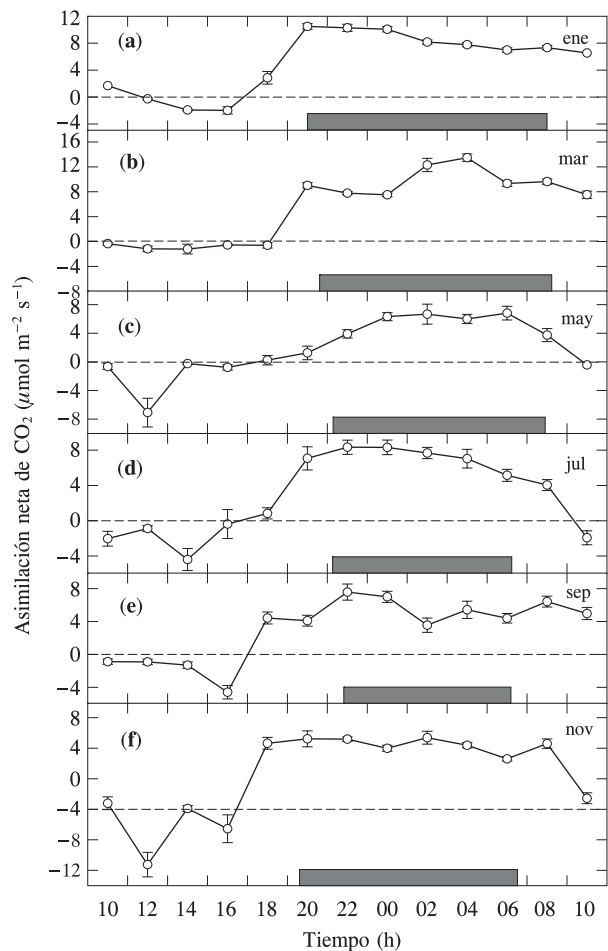


Figura 4. Asimilación neta de CO₂ durante 24 h en plantas jóvenes de *Agave tequilana* el 31 de enero-01 de febrero de 2002 (a); 21-22 de marzo de 2002 (b); 30-31 de mayo de 2002 (c); 10-11 de julio de 2002 (d); 20-21 de septiembre de 2002 (e); 15-16 de noviembre de 2002 (f). Los datos se presentan como promedio ± error estándar (n=6). Las barras rellenas indican el periodo de oscuridad.

Figure 4. Net CO₂ uptake over 24 h in young plants of *Agave tequilana* on January 31-February 01, 2002 (a); March 21-22, 2002 (b); May 30-31, 2002 (c); July 10-11, 2002 (d); September 20-21, 2002 (e); November 15-16, 2002 (f). The data are presented as means ± standard error (n=6). Hatched bars indicate the nighttimes.

from the medular parenchyma to the chlorenchyma during the dry season, when the soil water content is reduced (Nobel, 1995; Lüttge, 2004; Pimienta-Barrios *et al.*, 2005). This mechanism allows young and adult plants of *A. tequilana* to show high values of CO₂ assimilation in the dry months and to maintain the net gain of carbon throughout the year. Therefore, *A. tequilana* is a plant that is tolerant to drought, given that, as with many desert plants with succulent stems, they do not escape the drought (Smith *et al.*, 1997),

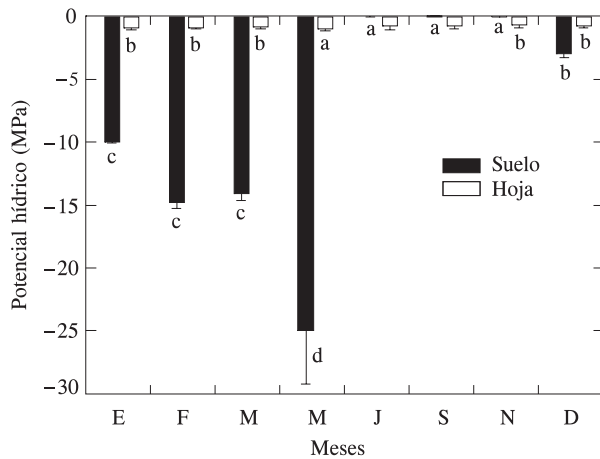


Figura 5. Variación estacional del potencial hídrico en suelo y la hoja de *Agave tequilana* en 2002 en Las Agujas, Zapopan, Jalisco. Medias con letras diferentes en una columna son diferentes ($p \leq 0.05$).

Figure 5. Seasonal variation of the water potential in soil and leaf of *Agave tequilana* in 2002 in Las Agujas, Zapopan, Jalisco. Means with different letters in a column are statistically different ($p \leq 0.05$).

el movimiento continuo de agua almacenada del parénquima medular al clorénquima durante la estación seca del año, cuando se reduce el contenido de agua en el

because it can carry out photosynthesis when the values of Ψ in the soil are low.

The succulence and nocturnal opening are fundamental mechanisms which favour the tolerance of the CAM plants to drought conditions (Nobel, 1995; Fitter and Hay, 2002; Mauseth, 2004). These water conservation mechanisms allow these plants to maintain the turgescence in the photosynthetic tissue, when the soil reaches values of Ψ below -1.5 MPa; with these values, the plants with C_3 and C_4 metabolisms reach permanent wilting point, and few species can recover (Nobel, 2005). The water stored in the succulent tissue, particularly in the medular parenchyma, makes it possible for the Ψ in the leaves to be no less than -1.02 MPa in May, the driest month of the year, when the Ψ of the soil reached -25.0 MPa. This makes it possible to sustain stomatal opening, thereby keeping the photosynthetic tissue active during the dry season (Barcikowsky and Nobel, 1984; Goldstein *et al.*, 1991). Furthermore, it permits photosynthesis during the dry season of the year and high values of photosynthesis (May of 2001: $567 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$; March of 2002: $558 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$), when the values of FPP increase due to the reduction in cloudiness, which commonly favours photosynthesis in CAM plants, as they present a higher requirement

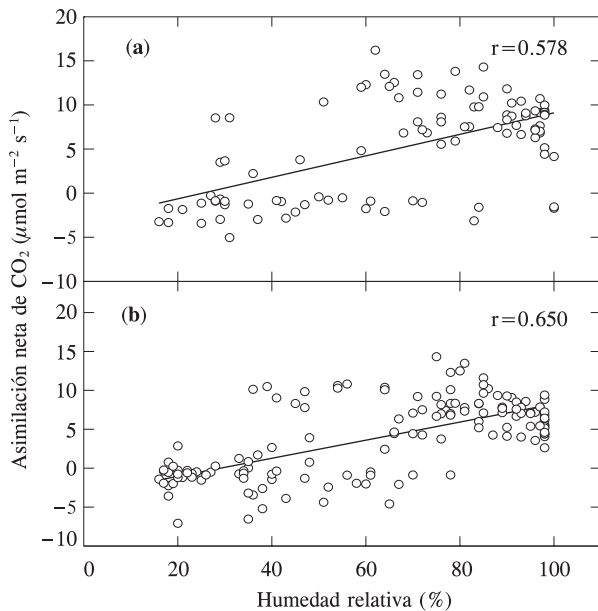


Figura 6. Relación entre las tasas de asimilación diurna y nocturna de CO_2 y la humedad relativa durante 2001 (a) y 2002 (b) en plantas jóvenes de *Agave tequilana* en Las Agujas, Zapopan, Jalisco.

Figure 6. Relationships between the day and night CO_2 uptake rates and relative humidity during 2001 (a) and 2002 (b) in young plants of *Agave tequilana* in Las Agujas, Zapopan, Jalisco.

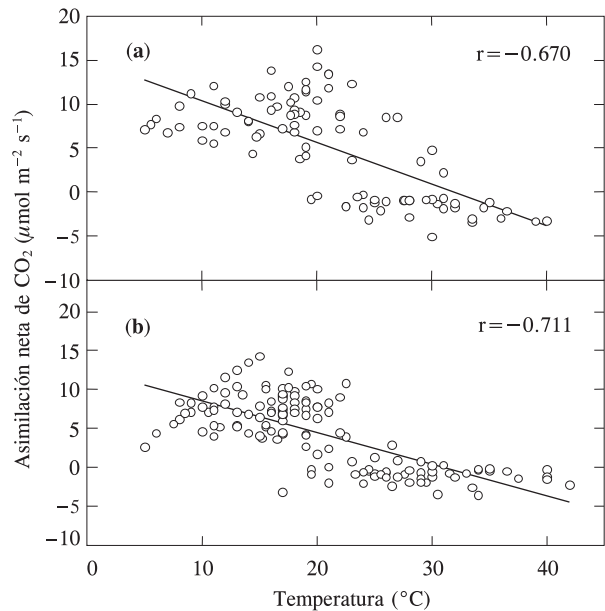


Figura 7. Relación entre las tasas de asimilación diurna y nocturna de CO_2 y la temperatura del aire para 2001 (a) y 2002 (b) en plantas jóvenes de *Agave tequilana* en Las Agujas, Zapopan, Jalisco.

Figure 7. Relationships between the day and night CO_2 uptake rates and air temperature for 2001 (a) and 2002 (b) in young plants of *Agave tequilana* in Las Agujas, Zapopan, Jalisco.

suelo (Nobel, 1995; Lüttge, 2004; Pimienta-Barrios *et al.*, 2005). Este mecanismo favorece que las plantas jóvenes y adultas de *A. tequilana* puedan mostrar valores altos de asimilación de CO₂ en los meses secos y mantengan la ganancia neta de carbono durante todo el año. Por tanto, *A. tequilana* es una planta tolerante a la sequía ya que, al igual que muchas plantas del desierto con tallos suculentos, no evaden la sequía (Smith *et al.*, 1997), porque puede efectuar la fotosíntesis cuando los valores de Ψ en el suelo son bajos.

La succulencia y la apertura nocturna son mecanismos fundamentales que favorecen la tolerancia de las plantas CAM a las condiciones de sequía (Nobel, 1995; Fitter y Hay, 2002; Mauseth, 2004). Estos mecanismos de conservación del agua permiten que en estas plantas el tejido fotosintético se mantenga húmedo, cuando el suelo alcanza valores de Ψ inferiores a -1.5 MPa; con esos valores las plantas con metabolismo C₃ y C₄ alcanzan el punto de marchitamiento permanente y pocas especies pueden recuperarse (Nobel, 2005). El agua almacenada en el tejido suculento, particularmente en el parénquima medular, permite que los Ψ de las hojas no sean inferiores a -1.02 MPa en mayo, el mes más seco del año, cuando el Ψ del suelo alcanzó -25.0 MPa. Esto permite sostener la apertura de estomas y mantener activo el tejido fotosintético durante periodo seco (Barcikowsky y Nobel, 1984; Goldstein *et al.*, 1991). Además, permite la fotosíntesis durante el periodo seco del año y valores altos de fotosíntesis (mayo de 2001: $567 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$; marzo de 2002: $558 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$), cuando aumentan los valores de FFF debido a la reducción en la nubosidad, lo que comúnmente favorece la fotosíntesis en plantas CAM ya que presentan un mayor requerimiento de ATP para realizar la fotosíntesis respecto a las plantas C₃ (Lambers *et al.*, 1998; Lüttge, 2002; Nobel, 2005). Los valores más bajos de Ψ registrados en este trabajo pueden ser favorables para la fotosíntesis en las plantas jóvenes de *A. tequilana* si se considera que en las plantas que crecen en ambientes muy secos, la fotosíntesis se afecta hasta que éstas muestran valores de Ψ menores a -4.0 MPa (Larcher, 2003).

La asimilación de carbono en las plantas CAM puede ser separada en cuatro fases (Cushman, 2001; Dodd *et al.*, 2002). En la fase I ocurre la fijación de CO₂ durante la noche para producir ácido málico que se acumula en la vacuola. La fase II ocurre al amanecer y representa la transición de la carboxilación de PEP_c a Rubisco. Durante la fase III los estomas cierran durante el día y el ácido málico sale de la vacuola, es descarboxilado e incrementa los niveles intercelulares de CO₂, el cual es refijado por Rubisco. Al final de la tarde empieza la fase IV y se inicia la activación de la PEP_c. Todas estas fases se observaron

of ATP to carry out photosynthesis with respect to C₃ plants (Lambers *et al.*, 1998; Lüttge, 2002; Nobel, 2005). The lower values of Ψ registered in this study may be favourable for photosynthesis in young plants of *A. tequilana* if it is considered that in the plants that grow in very dry environments, photosynthesis is affected until they show values of Ψ lower than -4.0 MPa (Larcher, 2003).

The assimilation of carbon in CAM plants can be separated into four distinct phases (Cushman, 2001; Dodd *et al.*, 2002). In phase I, CO₂ fixation occurs during the night to produce malic acid which accumulates in the vacuole. Phase II occurs in early morning and represents the transition of the carboxylation of PEP_c to Rubisco. During Phase III, the stomata close during the day and the malic acid is released from the vacuole, is decarboxylated and increases the cellular levels of CO₂, which is refixed by Rubisco. In late afternoon, phase IV begins and the activation of the PEP_c initiates. All of these phases were observed in young plants of *A. tequilana* in both periods of the year. Most of the carbon gain was observed during the night (Phase I), and in late afternoon (Phase IV); this incorporation of carbon in Phase IV was maintained during the driest month (May) of 2001. This capacity for maintaining carbon uptake in Phase IV is not common in other CAM plants under field conditions, such as *Opuntia ficus-indica*, *Stenocereus queretaroensis* (Pimienta-Barrios *et al.*, 2000), *O. basilaris* (Zarek and Ting, 1974), *Agave angustifolia* (José-Jacinto and García-Moya, 1995) and *Kalanchoe daigremontiana* (Wyka y Lüttge, 2003).

The incorporation of carbon in late afternoon and in the morning contributed substantially to the assimilation of CO₂ by the young plants of *A. tequilana*. This contribution became equal to that registered in adult plants of *A. tequilana* (Pimienta-Barrios *et al.*, 2001) and in the majority of CAM plants evaluated until now such as *O. ficus-indica*, *O. robusta*, *S. queretaroensis* (Pimienta-Barrios *et al.*, 2000, 2002; Nobel *et al.*, 2002), and *A. angustifolia* (José-Jacinto and García-Moya, 1995). Also, the young plants of *A. tequilana* were more efficient in carbon gain ($644 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$; Nobel *et al.*, 1998).

The assimilation of CO₂ by young plants of *A. tequilana* during the daytime and at night occurred through the combination of the C₃ photosynthetic pathways (day) and CAM (night), and are an example of photosynthetic plasticity which is reflected in the optimization of the use of the water, the balance of carbon in the plant and the use of light under favourable conditions of temperature and humidity

en plantas jóvenes de *A. tequilana* en ambas épocas del año. La mayor parte de la ganancia de carbono se observó durante la noche (fase I), y al final de la tarde (fase IV); esta incorporación de carbono en la fase IV se mantuvo durante el mes más seco (mayo) de 2001. Esta capacidad para mantener la asimilación de carbono en la fase IV no es común en otras plantas MAC en condiciones de campo. Por ejemplo, en *Opuntia ficus-indica*, *Stenocereus queretaroensis* (Pimienta-Barrios *et al.*, 2000), *O. basilaris* (Zarek y Ting, 1974), *Agave angustifolia* (José-Jacinto y García-Moya, 1995) y *Kalanchoe daigremontiana* (Wyka y Lüttge, 2003).

La incorporación de carbono al final de la tarde y en la mañana contribuyó substancialmente a la asimilación de CO₂ por las plantas jóvenes de *A. tequilana*. La contribución llegó a ser igual a la registrada en plantas adultas de *A. tequilana* (Pimienta-Barrios *et al.*, 2001) y en la mayoría de las plantas MAC evaluadas hasta ahora, como *O. ficus-indica*, *O. robusta*, *S. queretaroensis* (Pimienta-Barrios *et al.*, 2000, 2002; Nobel *et al.*, 2002), y *A. angustifolia* (José-Jacinto y García-Moya, 1995). También las plantas jóvenes de *A. tequilana* fueron más eficientes en la ganancia de carbono (644 mmol m⁻² d⁻¹) que en condiciones controladas en un invernadero (298 mmol m⁻² d⁻¹; Nobel *et al.*, 1998).

La asimilación de CO₂ por las plantas jóvenes de *A. tequilana* durante el día y la noche ocurre a través de la combinación de las sendas fotosintéticas C₃ (día) y CAM (noche), y son un ejemplo de plasticidad fotosintética que se refleja en la optimización en el uso del agua, el balance de carbono en la planta y el uso de la luz en condiciones favorables de temperatura y humedad durante el verano (Dodd *et al.*, 2002). El uso de la ruta fotosintética C₃ permite que algunas plantas CAM maximicen la ganancia de carbono cuando las condiciones ambientales son favorables, en particular, cuando aumenta la disponibilidad de agua (Cushman, 2001; Pimienta-Barrios *et al.*, 2002, 2005; Keeley y Rundel, 2003).

CONCLUSIÓN

Las plantas jóvenes de *A. tequilana*, aunque presentan una menor succulencia, pueden mantener la fotosíntesis en los meses secos del año. Además, su plasticidad fotosintética les permite capturar carbono durante el día y la noche. También estas plantas jóvenes presentan ganancias de carbono muy cercanas a los registrados en plantas adultas de *A. tequilana* y su asimilación de CO₂ se mantiene durante todo el año en condiciones húmedas y secas. Esto se debe, en gran parte, a la apertura nocturna de estomas y a la

during the summer (Dodd *et al.*, 2002). The use of the C₃ photosynthetic pathway allows some CAM plants to maximize carbon gain when the environmental conditions are favourable, in particular, when water availability is increased (Cushman, 2001; Pimienta-Barrios *et al.*, 2002, 2005; Keeley and Rundel, 2003).

CONCLUSION

Although the young plants of *A. tequilana* present a lower succulence, they maintain photosynthesis in the dry months of the year. Furthermore, their photosynthetic plasticity allows them to capture carbon during the day and night. These young plants also present carbon gain close to those registered in adult plants of *A. tequilana* and their CO₂ uptake is maintained throughout the year under wet and dry conditions. This is because of the combined effects of nocturnal stomatal aperture and succulence, therefore, the increase in the cultivated land of *A. tequilana* may benefit the environment, because of the capacity of this plant to sequester carbon during the dry season when few cultivated and wild C₃ and C₄ species can fix atmospheric CO₂.

—End of the English version—



succulencia, por lo que el incremento en el superficie cultivada de *A. tequilana* puede beneficiar al medio, debido a la habilidad de esta planta para secuestrar carbono durante el periodo seco del año cuando pocas especies cultivadas y silvestres C₃ y C₄ pueden fijar CO₂ atmosférico.

LITERATURA CITADA

- Barcikowski, W., and P. S. Nobel. 1984. Water relations, diurnal acidity changes, and productivity of a cultivated *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiol.* 72: 775-780.
- CRT (Consejo Regulador del Tequila). 2005. Anuario Estadístico de Producción del Sistema Agave-Tequila. Consejo Regulador del Tequila. Guadalajara, Jalisco. 80 p.
- Cushman, J. C. 2001. Crassulacean acid metabolism: a plastic photosynthetic adaptation to arid environments. *Plant Physiol.* 127: 1439-1448.
- Dodd, A. N., A. M. Borland, R. P. Haslam, H. Griffith, and K. Maxwell. 2002. Crassulacean acid metabolism: plastic, fantastic. *J. Exp. Bot.* 53: 569-580.
- Fitter, A. H., and R. K. M. Hay. 2002. *Environmental Physiology of Plants*. Third Edition. Academic Press. San Diego, CA. 367 p.
- Goldstein, G., J. Andrade, and P. S. Nobel. 1991. Differences in water relations parameters for the chlorenchyma and the parenchyma of *Opuntia ficus-indica* under wet versus dry conditions. *Aust. J. Plant Physiol.* 18: 95-107.

- José-Jacinto, R., y E. García-Moya. 1995. Fijación de CO₂ en *Agave angustifolia* Haw. Bol. Soc. Bot. México. 57: 5-10.
- Keeley, J. E., and P. W. Rundel. 2003. Evolution of CAM and C₄ carbon-concentrating mechanisms. Inter. J. Plant Sci. 164: 555-577.
- Lambers H., Chapin III, F. S. and T. L. Pons. 1998. Plant Physiological Ecology. Springer. New York. 540 p.
- Larcher, W. 2003. Physiological Plant Ecology. 3rd ed. Springer. Berlin, Germany. 209 p.
- Little, T. M., and J. F. Hill. 1975. Statistical Methods in Agricultural Research. University of California Press. Davis, California, USA. 270 p.
- Lüttge, U. 2002. CO₂-concentrating: consequences in crassulacean acid metabolism. J. Exp. Bot. 53 (378): 2131- 2142.
- Lüttge, U. 2004. Ecophysiology of crassulacean acid metabolism (CAM). Ann. Bot.-London 93: 629-652.
- Medina-García G., J. A. Ruiz C., y R. A. Martínez P. 1998. Los Climas de México. Libro Técnico Núm. 1. INIFAP (ed). Conexión Grafica. Guadalajara, Jalisco, México. 103 p.
- Mauseth, J. D. 2004. The structure of photosynthetic succulent stems in plants other than cacti. Int. J. Plant Sci. 165(1): 1-9.
- Nobel, P. S. 1995. Environmental biology. In: Agro-Ecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear. Barbera G., P. Inglese and E. Pimienta-Barrios (eds). Plant Production and Protection Paper, FAO. Rome, Italy. Vol. 132. pp: 36-48.
- Nobel, P. S. 2005. Physicochemical and Environmental Plant Physiology. Third Edition. Elsevier Academic Press. San Diego, USA. 571 p.
- Nobel, P. S., G. Castañeda, G. North, E. Pimienta-Barrios, and J. A. Ruiz-Corral. 1998. Temperatures influences on leaf CO₂ exchanges, cell viability and cultivation range for *Agave tequilana*. J. Arid Environ. 39: 1-19.
- Nobel, P. S., E. Pimienta-Barrios, J. Zañudo-Hernández, and B. C. Ramírez-Hernández. 2002. Historical aspects and net CO₂ uptake for cultivated crassulacean acid metabolism plants in Mexico. Ann. Appl. Biol. 140: 133-142.
- Pimienta-Barrios, Eu., J. Zañudo, E. Yopez, En. Pimienta-Barrios and P. S. Nobel. 2000. Seasonal variation of net CO₂ uptake for cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) and pitayo (*Stenocereus queretaroensis*) in a semiarid environment. J. Arid Environ. 44: 73-83.
- Pimienta-Barrios, E., C. Robles-Murguía, and P. S. Nobel. 2001. Net CO₂ uptake for *Agave tequilana* in a warm and a temperate environment. Biotropica 33: 312-318.
- Pimienta-Barrios, E., M. E. González del Castillo-Aranda, and P. S. Nobel. 2002. Ecophysiology of a wild platyopuntia exposed to prolonged drought. Env. Exp. Bot. 47: 77-86.
- Pimienta-Barrios, E., J. Zañudo-Hernández, V. C. Rosas-Espinoza, A. Valenzuela-Tapia, and P. S. Nobel. 2005. Young daughter cladodes affect CO₂ uptake by mother cladodes of *Opuntia ficus-indica*. Ann. Bot.- London 95: 363-369.
- Smith, S. D., R. K. Monson, and J. E. Anderson. 1997. Physiological Ecology of North American Desert Plants. Springer-Verlag. Heilderberg. 286 p.
- Tyree, M. T., G. Vargas, B. M. J. Engelbrecht, and, T. A. Kursar. 2002. Drought until death do us part: a case study of the desiccation-tolerance of a tropical moist forest seedling-tree, *Licania platypus* (Hemsl.) Fritsch. J. Exp. Bot. 53: 2239-2247.
- Wyka, T. P., and U. E. Lüttge. 2003. Contribution of C₃ carboxylation to the circadian rhythm of carbon dioxide uptake in a Crassulacean acid metabolism plant *Kalanchoë daigremontiana* J. Exp. Bot. 54 (386): 1471-1479.
- Zar, J. H. 1999. Biostatistical Analysis, 4th ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs. New Jersey, USA. 663 p.
- Zarek S. R., and I. P. Ting. 1974. Seasonal Patterns of Acid Metabolism and Gas Exchange in *Opuntia basilaris*. Plant Physiol. 54: 76-81.