

# **UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**

---

**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
Y AGROPECUARIAS**



## **ECOFISIOLOGÍA DE PLANTAS JÓVENES DEL AGAVE AZUL (*Agave tequilana*) WEBER**

**JAVIER GARCÍA GALINDO**

**TESIS**

Presentada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS AGRÍCOLAS Y FORESTALES**

Zapopan, Jalisco, Enero del 2004

ESTA TESIS TITULADA "ECOFISIOLOGIA DE PLANTAS JOVENES DEL AGAVE AZUL (*Agave tequilana*) WEBER" FUE REALIZADA BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR INDICADO, HA SIDO APROBADA POR EL MISMO Y ACEPTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA LA OBTENCIÓN DE GRADO DE:

MAESTRIA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS Y FORESTALES

CONSEJO PARTICULAR

TUTOR:



DR. EULOGIO PIMIENTA BARRIOS

ASESOR:



DR. EDUARDO LOPEZ ALCOZER

ASESOR:



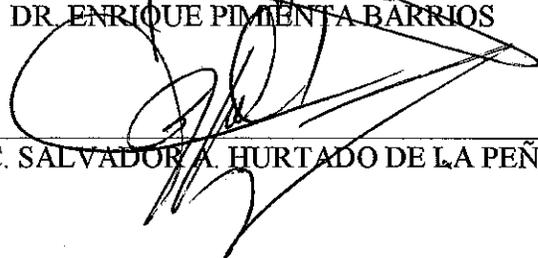
M.C. JULIA ZAÑUDO HERNÁNDEZ

ASESOR:



DR. ENRIQUE PIMIENTA BARRIOS

ASESOR:



M.C. SALVADOR A. HURTADO DE LA PEÑA

Las Agujas, Apopan, Jalisco, enero del 2004

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Ecofisiología Vegetal del Departamento de Ecología del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara y fue apoyado por el "PROGRAMA GENERAL DE APOYO Y DESARROLLO TECNOLÓGICO A LA CADENA PRODUCTIVA AGAVE – TEQUILA".

## AGRADECIMIENTOS

Es mi deseo expresar mi agradecimiento al Dr. Eulogio Pimienta Barrios por brindarme la oportunidad de colaborar en su equipo de investigación, y por su acertada dirección en el presente trabajo.

De la misma manera a la M.C. Julia Zañudo Hernández por su valiosa asesoría en la realización de este trabajo y su gran paciencia.

Así como al Dr. Eduardo López Alcocer, por sus observaciones que permitieron la finalización de este trabajo.

Al equipo de trabajo del Laboratorio: Verónica Rosas Espinosa, Maria Eugenia González del Castillo Aranda, Luis Ortiz Catedral, Blanca Ramírez Hernández, Lucila, Emanuel Gutiérrez Hernández y Lucila Méndez Moran.

Al Consejo Regulador del Tequila, A.C., por permitirme destinar el tiempo necesario para la realización del trabajo.

**INDICE GENERAL**

RESUMEN	vii
SUMMARY	viii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1 Clasificación y descripción botánica del agave tequilero ( <i>Agave tequilana</i> )	2
2.2 Aspectos fisiológicos del agave	3
2.3 El cultivo del agave	3
2.4 Productividad del agave tequilana	4
3. MATERIALES Y METODOS	5
3.1. Colecta del material y Establecimiento experimento	5
3.2 Evaluación del desarrollo de la colonización por hongos micorrizicos vesiculo arbúscular (MVA).	6
3.3. Evaluación del crecimiento vegetativo	6
3.4 Medición estacional de la fotosíntesis	7
3.5 Análisis estadístico	7
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	8
5. CONCLUSIONES	26
6. BIBLIOGRAFÍA	27

## INDICE DE FIGURAS

- Figura 1 Fenofases y tiempo de colonización de raíces por hongos micorrizicos en *A. tequilana*. 8
- Figura 2 Crecimiento vegetativo (número de hojas desprendidas del cogollo) promedio en plantas jóvenes de *A. tequilana* estudiadas dentro de un invernadero en el 2001 (a); y estudiadas en el 2002 (b), dentro de un invernadero (□) y fuera del invernadero (Δ) en la localidad de Las Agujas municipio de Zapopan, Jalisco. (a) Promedios ± EE (n=100), (b) Promedios. ± EE (n=50). 9
- Figura 3 Temperatura promedio mensual mínima (Δ) y máxima (O); precipitación pluvial (barras) (a); humedad relativa (b); y flujo fotosintético de fotones promedio mensual (c); en la localidad de Las Agujas municipio de Zapopan, Jalisco, durante el 2001. Promedios ± EE (n=30) 11
- Figura 4 Temperatura promedio mensual mínima (Δ) y máxima (O), precipitación pluvial (barras) (a); humedad relativa (b), y flujo fotosintético de fotones promedio mensual (c); en la localidad de Las Agujas municipio de Zapopan, Jalisco, durante el 2002. Promedios ± EE (n=30) 12
- Figura 5 Asimilación neta diaria de CO<sub>2</sub> durante 24 h en plantas jóvenes de *A. tequilana*, dentro de invernadero en 15-16 de enero de 2001 (a), 12-13 de mayo de 2001 (b), 14-15 de junio de 2001 (c); 17-18 de julio de 2001 (d), 30-31 de agosto de 2001 (e); 19-20 de septiembre de 2001 (f), 1-2 de octubre de 2001 (g); y 29-30 de noviembre de 2000 (h). Los datos son promedios ± EE (n=6) 14
- Figura 6 Asimilación neta diaria de CO<sub>2</sub> durante 24 h en plantas jóvenes de *A. tequilana* dentro de invernadero en 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); y 15-16 de noviembre de 2002 (f). Los datos son promedios ± EE (n=6) 16

- Figura 7 Asimilación neta diaria de CO<sub>2</sub> durante 24 h en plantas jóvenes de *Agave tequilana* fuera del invernadero en 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); y 15-16 de noviembre de 2002 (f). Los datos son promedios  $\pm$  EE (n=6) 17
- Figura 8 Relación entre la temperatura con la asimilación neta CO<sub>2</sub> en plantas jóvenes de *A. tequilana* durante el 2001 (a); y durante el 2002 dentro de un invernadero (b) y fuera de un invernadero (c). 22
- Figura 9 Relación entre la humedad relativa con la asimilación neta CO<sub>2</sub> en plantas jóvenes de *A. tequilana* durante el 2001 (a); y durante el 2002 dentro de un invernadero (b) y fuera de un invernadero (c) 24

**INDICE DE TABLAS**

Tabla 1	Variación estacional en la Asimilación neta diaria (And) y la Tasa máxima de asimilación (Tma) en el 2001 durante 24 h en <i>A. tequilana</i> colocadas dentro de un invernadero	19
Tabla 2	Variación estacional en la Asimilación neta diaria y la Tasa máxima de asimilación en el 2002 durante 24 h en <i>A. tequilana</i> colocadas dentro y fuera de un invernadero	19
Tabla 3	Potencial hídrico en suelo y en hoja de plantas jóvenes de <i>A. tequilana</i> durante el 2002 dentro y fuera de un invernadero	20

## RESUMEN

En el último siglo el agave azul (*Agave tequilana*) se ha convertido en uno de los cultivos más importantes para el estado de Jalisco, México; sin embargo el desarrollo de este cultivo ha sido afectado por plagas y enfermedades, y por una drástica reducción de precio de la materia prima ("piña"). Por otra parte en los últimos años la superficie cultivada ha sido incrementada dramáticamente, aunque el conocimiento de los procesos básicos en el funcionamiento de la planta es relativamente pobre, y la mayoría de las recomendaciones técnicas para el manejo de plantaciones comerciales de agave, particularmente en las etapas de establecimiento (desarrollo de plantas jóvenes) han sido usando información empírica basada en el conocimiento popular. Uno de los procesos más importantes en el funcionamiento de la planta es la fotosíntesis, un proceso que ha sido extensivamente estudiado en plantas maduras pero no en plantas jóvenes. En esta tesis nosotros reportamos dos años de estudio estacional (2001 y 2002) en las tasas de formación de hojas y fotosíntesis en plantas jóvenes bajo condiciones de campo y condiciones controladas (invernadero) y estas mediciones fueron relacionadas con variables ambientales (e.g. luz, temperatura del aire y humedad del aire) y con el potencial hídrico del tejido. La tasa más alta de formación de hojas ocurrió a inicios del verano y finalizó al término de la estación de otoño. Las mediciones de intercambio de gases revelaron que las plantas jóvenes tienen ganancia de carbono durante el día (al final de la tarde y al inicio de la mañana), sin embargo la ganancia de carbono ocurre en la noche como la mayoría de las plantas MAC. La temperatura del aire y a la humedad relativa mostraron una fuerte relación positiva con las tasas de asimilación de CO<sub>2</sub>.

## SUMMARY

During the last decade of XX century the agave azul (*Agave tequilana*) had become one of the most important crops for the state of Jalisco, México; however, the development of this crop have been affected for pest and diseases, and by a drastic reduction in prices of the product "piñas". On the other hand during the last years the cultivated surface have been increased dramatically, however, the knowledge of basic process in plant function is relatively poor, and most of the technical recommendations for the management of commercial of agave plantations, particularly during the establishment stage (young plant development) have made using empirical information, based in popular knowledge. One of the most important processes in plant functioning is photosynthesis, a process that has been extensively studied in mature plants, but not in young plants. In this thesis we reported a two years (2001 and 2002) seasonal study on the rates of leaf formation and photosynthesis in young plants under both field and controlled conditions (greenhouse), and this measurements were related with environmental variables (i.e. light, air temperature, air humidity) and tissue water potential as well. The highest rates of leaf formation occurred start early summer, ending at the end of the fall season. Gas exchange measurements revealed that the young plants exhibited carbon gain during the day (late afternoon and early morning), however, most of the carbon gain occurs at night, as is common in CAM plants. Both temperature and air humidity showed a strong positive relation with the rates of net CO<sub>2</sub> uptake.

## 1. INTRODUCCION

El agave azul (*Agave tequilana* Weber), se ha convertido en una de las principales plantas cultivadas en el estado de Jalisco. El crecimiento de la superficie cultivada ha sido notable en los últimos años debido a la creciente demanda nacional e internacional de la bebida denominada tequila. La expansión de éste cultivo se enfrentó con una gran diversidad de problemas que afectaron su desarrollo, dichos problemas se traducen en una gran variedad de síntomas, la mayoría de los cuales no ha sido posible identificar los agentes causales. La información disponible apoyada por investigación formal fue y es todavía escasa en tanto que la disponible carece de confiabilidad ya que esta basada en observaciones e interpretaciones deductivas (Valenzuela, 1994). El estudio de la respuesta de *A. tequilana* a los diferentes factores bióticos (e.g. plagas, enfermedades, simbiosis) y abióticos (e.g. luz, temperatura) que afectan en forma positiva y negativa el desarrollo de esta especie es fundamental para la propagación, manejo de las plantaciones y la elección de las regiones edáficas y climáticas favorables para el desarrollo del agave azul. Hasta la fecha los temas estudiados son ecofisiología del agave (Nobel *et al.*, 1998; Pimienta *et al.*, 2001), agroclimatología (Nobel y Valenzuela, 1986) y plagas (Solis-Aguilar *et al.*, 2001). No obstante que el aspecto que mas se ha estudiado es el ecofisiológico, la mayoría de los estudios en esta área se han llevado a cabo con plantas maduras y únicamente se ha realizado un trabajo de ecofisiología con plantas jóvenes (1-2 años de edad), pero este estudio fue realizado en cámaras de ambiente controlado (Nobel *et al.*, 1998).

En este trabajo se presenta información sobre la respuesta fotosintética del agave azul a factores físicos del ambiente (luz, temperatura, humedad relativa) y tiene como objetivo principal evaluar la influencia de estos factores en la fotosíntesis estacional en plantas jóvenes.

## 2. REVISION DE LITERATURA

### 2.1. Clasificación y descripción botánica del agave tequilero (*A. tequilana*).

El agave tequilero o agave azul forma parte de la familia *Agavaceae* (Gentry, 1982; Valenzuela, 1994) que es endémica de América y se distribuye en el sur de Canadá, México, Centroamérica, norte de Sudamérica e islas del Caribe (Valenzuela, 1994). Esta familia ha tenido muchos cambios en su clasificación, algunos autores unen sus géneros con miembros de las familias *Liliaceae* y *Amaralidaceae*. La familia *Agavaceae* tiene dos subfamilias *Yuccoideae* (yucas) y *Agavoideae* (agaves), los agaves pertenecen a la tribu *Agaveae*, al subgénero *Agave* y la especie del agave tequilero *tequilana*.

Superorden: Liliannae

Orden: Aspargales

Familia: Agavaceae

Subfamilia: Agavoideae

Tribu: Agaveae

Género: *Agave*

Subgénero: *Agave*

Especie: *tequilana*

Es una planta surculosa que se extiende radialmente, de 2.2 a 2.8 m de altura (cuando tiene inflorescencia). Su tallo es grueso y corto, de 30 a 50 cm de altura al madurar. Las hojas son lanceoladas, acuminadas y de fibras firmes rígidamente estiradas, cóncavas de 90 a 120 cm, de color glauco de azulado a verde grisáceo. El margen de las hojas es de recto a ondulado o repando; los dientes son de tamaño regular, espaciados de color café claro a oscuro, sus ápices son delgados, curvos o flexos con base piramidal. La espina generalmente es corta de uno a dos centímetros de largo, su base es ancha café obscura. La inflorescencia es una panícula densamente ramosa a lo largo de 20 a 25 umbelas de flores verdes y estambres rosados. Las flores son de 68 a 75 mm de largo con bracteolas sobre los pedicelos. Ovario cilíndrico con cuello corto, casi terminado en punta sobre la base de 32 a 38

mm de largo. Tubo floral de 10 mm de ancho. Tépalos desiguales lineares erectos pero rápidamente flojos en la anthesis de 25 a 28 mm. Los filamentos miden de 45 a 50 mm de largo doblados hacia adentro junto al pistilo, insertos cerca de la base del tubo de cinco a siete mm; las anteras son de 25 mm de largo. El fruto es una cápsula ovada a ligeramente cuspidada (Gentry, 1982).

## 2.2. Aspectos fisiológicos del agave

*Agave tequilana* presenta metabolismo ácido de las crasuláceas (MAC), este tipo de metabolismo se encontró por primera vez en plantas de la familia Crassulacea por lo que a las plantas que lo tienen se les denomina plantas CAM (por sus siglas en inglés). Este tipo de metabolismo se caracteriza por la apertura nocturna de estomas para la toma de CO<sub>2</sub> y el cierre diurno de estos para evitar pérdida de humedad. El agave, al igual que otras plantas MAC almacenan el CO<sub>2</sub> fijado (por la enzima fosfoenol piruvato carboxilasa-PEPcase) en la oscuridad en vacuolas en forma de ácidos orgánicos, por lo que tienden a un aumento en la acidez durante la noche, se ha encontrado que las temperaturas nocturnas cálidas reducen la actividad de la enzima (Pimienta *et al.*, 2000), por lo que disminuye la producción y acumulación de azúcares en tejidos de reserva (Pimienta *et al.*, 1999). Este tipo de metabolismo es un mecanismo de adaptación de las plantas de zonas áridas para facilitar la fotosíntesis y ahorrar agua (Nobel y Hartsock, 1976; Kluge, 1979; Nobel, 1994).

## 2.3. El cultivo del agave.

Desde hace un milenio, los indígenas mexicanos aprendieron a extraer la savia de las largas y carnosas hojas de agave (*Agave salmiana*), y a fermentarla para después producir una bebida ligeramente alcohólica llamada pulque. Durante el imperio azteca, se utilizaba únicamente como bebida ritual de los sacerdotes, para mitigar el sufrimiento de los que iban a ser sacrificados a los dioses, como privilegio

de los ancianos, y como recompensa para los guerreros que habían demostrado su valentía (Luna, 1991; Pfeiff, 1995; Valenzuela, 1997).

A diferencia de los indígenas, los invasores españoles eran grandes bebedores y ansiaban algo más fuerte que el pulque. Habían traído consigo el conocimiento del proceso de destilación (que adquirieron de los moros) y descubrieron que varias especies del género *Agave* (entre ellas la de *A. tequilana*) producían un licor fuerte y transparente denominado mezcal, y fue hasta 1893, cuando una bebida de mezcal producido en el pueblo de Tequila, Jalisco ganó un premio en la Feria Mundial de Chicago con el nombre de "brandy de mezcal" tomó fama la bebida y en 1910 una bebida similar pero nombrada "vino tequila" mereció un trofeo en San Antonio, Texas, y el nombre de "tequila" permaneció para nombrar a la bebida. Desde entonces fue cuando *A. tequilana* comenzó a cultivarse a gran escala. Ahora el 90% del "tequila" se exporta a Alemania, Australia, Brasil, Canadá, Estados Unidos, Francia, Inglaterra, Japón, Puerto Rico y Sudáfrica, (Luna, 1991; Pfeiff, 1995).

#### **2.4. Productividad del *A. tequilana*.**

Se ha encontrado que la productividad del agave disminuye conforme a la edad de la planta, siendo más acelerada en los dos primeros años. En el último año (de siete a ocho) disminuye el peso seco en las hojas y las raíces para concentrarse el crecimiento en el tallo, y se estima que plantas de un año producen  $2.49 \text{ kg m}^{-2}$  de peso seco de hojas formadas, plantas de tres años producen  $2.24 \text{ kg m}^{-2}$ , y plantas de seis años producen  $2.11 \text{ kg m}^{-2}$  (Nobel y Valenzuela, 1986). Esta productividad es similar a otras especies de agave (Nobel, 1985).

### 3. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. Colecta del material y establecimiento del experimento

El establecimiento del experimento se realizó en septiembre del 2000 y el estudio ecofisiológico se efectuó a partir de enero del 2001 hasta noviembre del 2002, en el laboratorio de Ecofisiología Vegetal del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara (20° 44' 50" latitud norte, 103° 30' 51" longitud oeste a 1620 m s.n.m.). Para este estudio se colectó suelo y plantas jóvenes ("hijuelos") de *A. tequilana* Weber variedad azul de una plantación comercial del predio "La Loma" el cual se localiza en el municipio de Arenal, Jalisco (20° 47' 32" latitud norte, 103° 41' 41" longitud oeste a 1380 m s.n.m.). Los "hijuelos" fueron seleccionados de una edad de cuatro años y visualmente asintomático de stress o enfermedad. Se hizo un arreglo de 100 plantas bajo un diseño completamente al azar.

Durante el desarrollo del experimento se les suministro 3 L de la solución de Long Ashton, y se mantuvieron en condiciones de invernadero, para semejar condiciones ambientales de regiones cálidas, ya que el cultivo de agave ha sufrido una expansión hacia estas zonas. Para contrastar estas condiciones ambientales y semejar las condiciones ambientales templadas a partir de enero de 2001 el 50% de las plantas se reubicaron fuera del invernadero, y se colocaron en un diseño completamente al azar.

Los datos climáticos (temperaturas máximas y mínimas promedio mensuales y precipitación pluvial mensual) se obtuvieron de enero de 2001 a noviembre de 2002, de la estación meteorológica de la Comisión Nacional del Agua ubicada en el Parque Colomos, para complementar estas variables, durante las mediciones de fotosíntesis en el sitio de ubicación del experimento se registraron algunas variables ambientales como son: el flujo fotosintético de fotones (FFF; a longitudes de onda de 400 a 700 nm) las mediciones se realizaron cada hora después de salir y antes de ocultarse el sol con un sensor cuántico Li-Cor Li-250 (Li-Cor, Lincoln, NE), la temperatura del aire, del suelo y la humedad relativa las cuales se registraron cada hora por un periodo de 24 h. Dichas mediciones se efectuaron usando un termómetro de bulbo, un termómetro digital y un manómetro digital de humedad respectivamente.

### **3.2 Evaluación del desarrollo de la colonización por hongos micorrícicos vesículo arbúscular (MVA).**

Para evaluar el desarrollo del proceso de colonización por hongos MVA se colectaron raíces durante el verano que es cuando aparecen las raíces de lluvia, las cuales son colonizadas por hongos MVA (Arceta *et al.*, 1999). Estas se fijaron en una solución de formaldehído: ácido acético: alcohol (FAA) en una proporción 10:5:85 (v:v:v) (Jensen, 1962) para observaciones anatómicas y del proceso de colonización de las raíces por hongos MVA. Para observar el proceso de colonización por hongos MVA las raíces se aclararon en una solución de KOH (10%), y se ablandaron en un autoclave 10 minutos a 10 libras, después se decantó el KOH. Las raíces se lavaron con agua y se les añadió HCl (3%), para después teñirlas con azul de tripano (0.05%) en lactoglicerol (Phyllips y Hayman, 1970). El porcentaje de colonización micorrícica se evaluó en 10 segmentos de raíz de 1 cm de longitud cada uno. Los segmentos teñidos fueron montados en portaobjetos con tres repeticiones y se examinaron en un microscopio sinóptico marca Zeiss a 10 y 40X. Se cuantificó el porcentaje de colonización considerando campos positivos aquellos que presentaran alguna estructura micorrícica (hifa, vesícula o arbúsculo) empleando el método descrito por McGonigle *et al.* (1990).

### **3.3. Evaluación del crecimiento vegetativo**

El crecimiento vegetativo fue considerado como el desprendimiento de hojas nuevas del cogollo debido a que este presentan actividad meristemática y representa un aumento irreversible de volumen (Taiz y Zeiger, 2002), esta variable fue registrada mensualmente a partir del mes de septiembre del 2000 hasta noviembre del 2002. El método para el conteo de hojas desprendidas consistió en identificar, marcar y contar las hojas desprendidas.

### 3.4. Medición estacional de la fotosíntesis

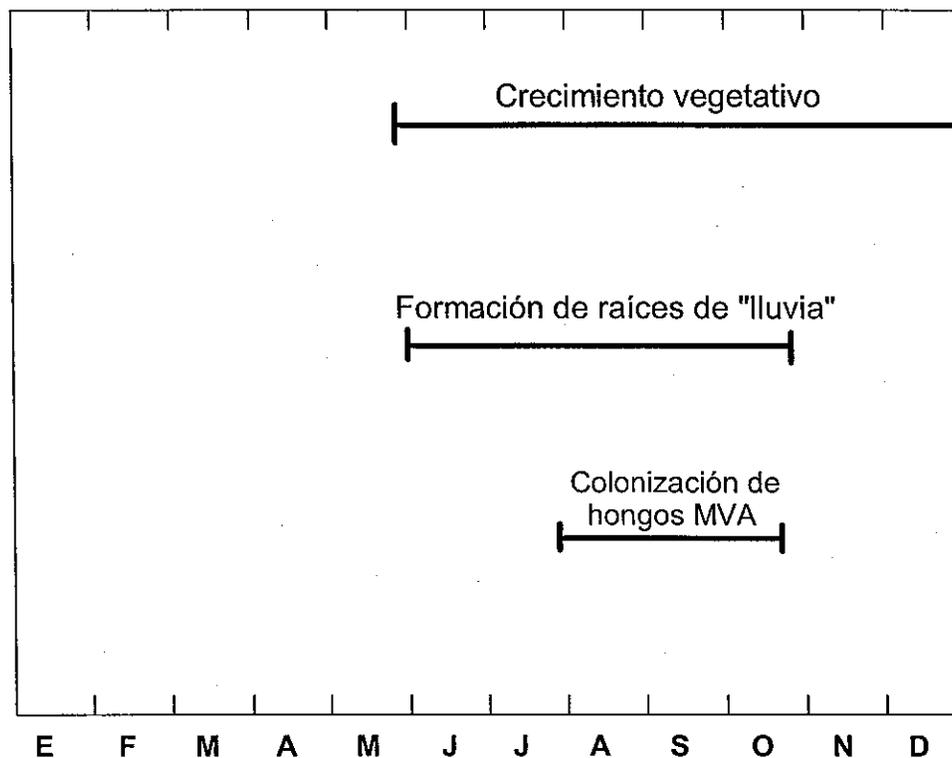
La fotosíntesis medida como asimilación neta de CO<sub>2</sub> (An) se llevó a cabo en las siguientes fechas: 11-12 enero, 25-26 mayo, 29-30 junio, 27-28 julio, 31 agosto-1 septiembre, 27-28 septiembre, 25-26 octubre y 29-30 noviembre del 2001; y 31 enero-01 febrero, 21-22 marzo, 30-31 mayo, 10-11 julio, 20-21 septiembre y 15-16 noviembre del 2002. La An se registró cada 2 h durante 24 h en cada fecha de medición. Esta actividad se realizó con un sistema portátil para medir fotosíntesis LI-Cor 6200 (Li-Cor, Lincoln, NE), cuya cámara de medición de 250 cm<sup>3</sup> fue modificada, para poder registrar el intercambio de gases en una superficie laminar suculta, como es el caso de las hojas de *A. tequilana*. Esta modificación requirió el reemplazo de la cubierta semicilíndrica, dejando la parte de la cámara en forma de prisma con base rectangular, la que fue cubierta con una mica de plástico, dejando en un extremo una pequeña abertura rectangular de 6 cm<sup>2</sup> (2 cm x 3 cm) cuyos bordes se cubrieron con hule-espuma (Pimienta-Barrios *et al.*, 2000). Esta apertura se colocó en la superficie adaxial de la hoja presionando para evitar fugas, durante estas mediciones.

### 3.5. Análisis estadístico

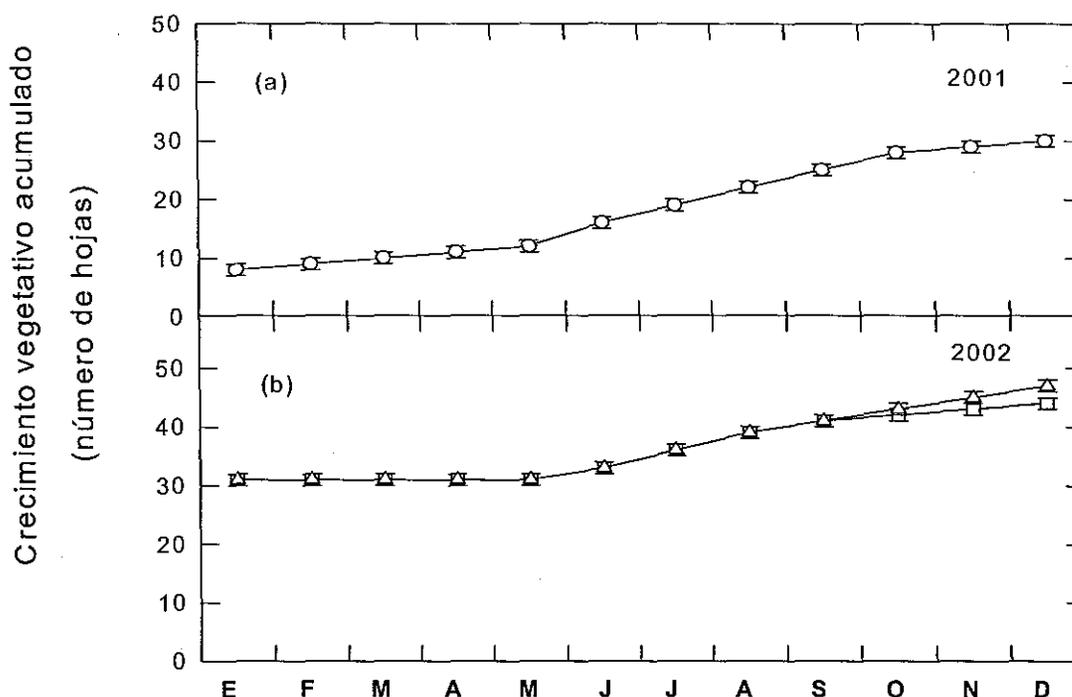
Los datos obtenidos (asimilación neta diaria de CO<sub>2</sub> y tasa máxima de asimilación de CO<sub>2</sub>) fueron analizados empleando Análisis de Varianza (ANOVA) de dos vías. Cuando hubo diferencias significativas entre las medias se realizaron pruebas de Diferencia Mínima Significativa (DMS) para determinar diferencias entre las condiciones ambientales (dentro y fuera del invernadero). Para relacionar las variables ambientales (humedad relativa y temperatura) con la asimilación de CO<sub>2</sub> se utilizaron correlaciones. Los datos fueron presentados como promedio ± EE (Little y Hills, 1976; Wardlaw, 2001).

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se presentan las fechas en que ocurren las principales fenofases en *A. tequilana*. En esta figura se observa que *A. tequilana* empieza a formar hojas al empezar el verano (junio) y termina al iniciar el invierno (diciembre) (Figs. 1a, 2a y 2b). La formación de raíces nuevas conocidas como raíces de lluvia ocurre en el verano, lo cual coincide con el periodo de lluvias (junio a octubre), y la colonización de estas raíces por hongos micorrícicos comienza a mitad de julio hasta finales de octubre (Figs. 1, 2a y 3a).



**Figura 1.** Fenofases y tiempo de colonización de raíces por hongos micorrícicos en *A. tequilana*.



**Figura 2.** Crecimiento vegetativo (número de hojas desprendidas del cogollo) promedio en plantas jóvenes de *A. tequilana* estudiadas dentro de un invernadero en el 2001 (a); y estudiadas en el 2002 (b), dentro de un invernadero (□) y fuera del invernadero (Δ) en la localidad de Las Agujas municipio de Zapopan, Jalisco. (a) Promedios  $\pm$  EE (n=100), (b) Promedios  $\pm$  EE (n=50).

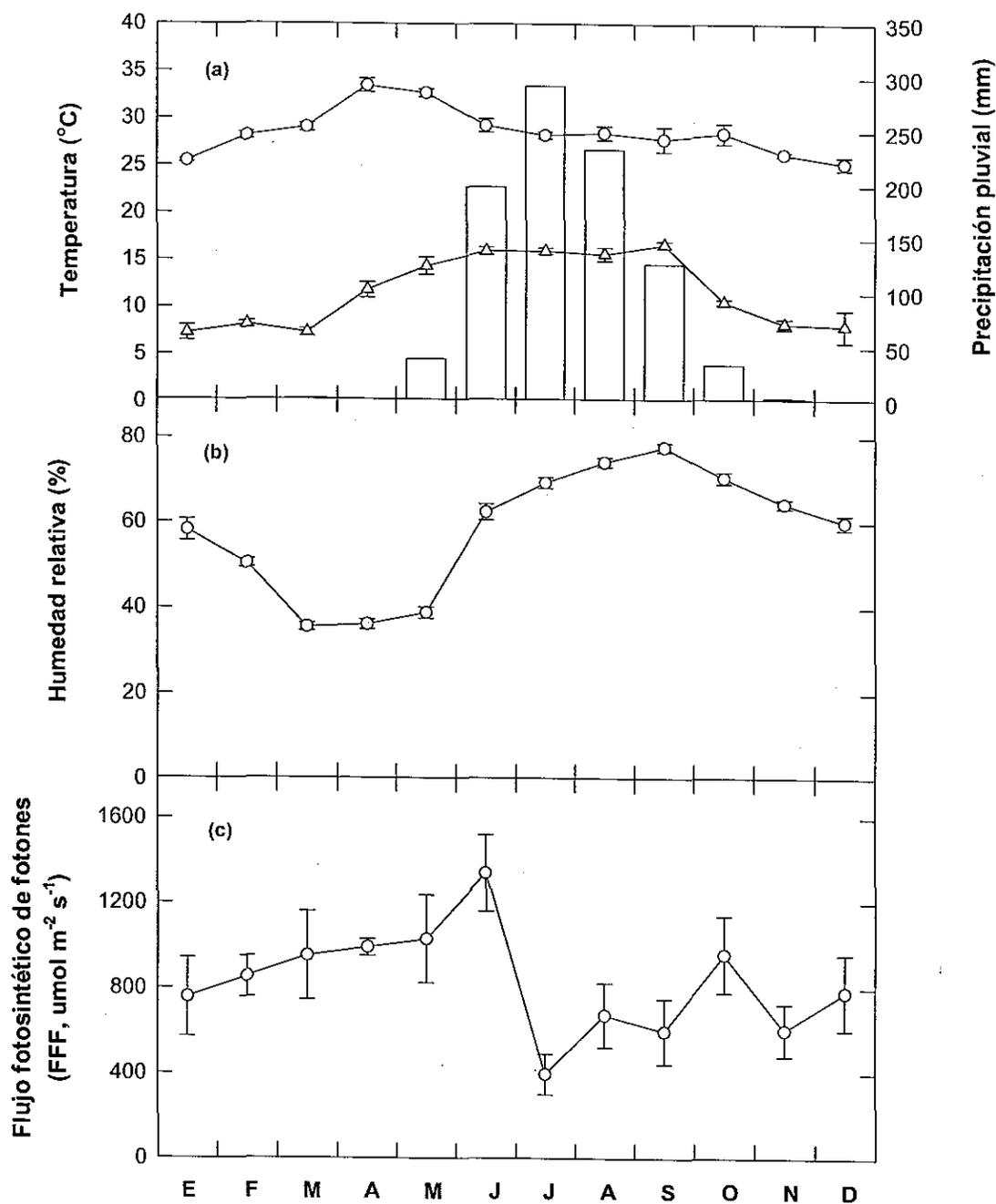
La dinámica de formación de hojas mostró patrones similares en los dos años de observaciones (2001 y 2002). En 2001 el número de hojas formadas ("desprendidas"), se mantuvo constante del mes de enero a mayo, pero a partir del mes de junio aumento la tasa de formación de hojas por planta (aproximadamente cuatro por mes en promedio), en comparación con los meses previos que fue inferior a una por mes. Dicho incremento del mes de junio a octubre fue exponencial, el cual se reduce gradualmente al final del otoño y al empezar el invierno (Figs. 2a y 2b). En el 2001 (Fig. 2a), la tasa de formación de hojas fue ligeramente más alta de enero a mayo que en el 2002 (Fig. 2b), y de junio octubre se incrementó aunque la tasa de formación de hojas durante este periodo fue menor que en 2002. La tasa de formación de hojas fue más alta fuera del invernadero que dentro del invernadero, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa (Fig. 2b).

La precipitación pluvial registrada durante el año 2001 fue de 932 mm, y el mayor porcentaje de precipitación (91%) se registró de junio a septiembre. El periodo de sequía se presentó de enero a abril, ocurriendo las primeras lluvias en mayo (Fig. 3a). Para el año 2002 el periodo de lluvias fue mas largo, y estas ocurrieron de mayo a octubre, periodo en el que se registró el 92% de la precipitación anual (Fig. 4a). La precipitación pluvial en 2002 fue 23% (1214 mm) más alta que en el 2001 (Fig. 4a). Las temperaturas promedio máxima y mínima fueron bajas de enero a marzo del 2001 (Fig. 3a), y aumentaron gradualmente de abril a mayo. Durante el verano (a partir de junio) las temperaturas promedio máxima y mínima se redujeron (28 y 16°C en promedio, respectivamente), lo cual coincidió con un aumento en la humedad relativa (Fig. 3b), y con la disminución en la cantidad de luz (Fig. 3c). A partir de octubre, se observó reducción en las temperaturas del aire, siendo esta reducción más notable para las temperaturas mínimas, ya que el descenso fue de 10°C en este mes. Diciembre fue el mes más frío con una temperatura promedio de 8°C.

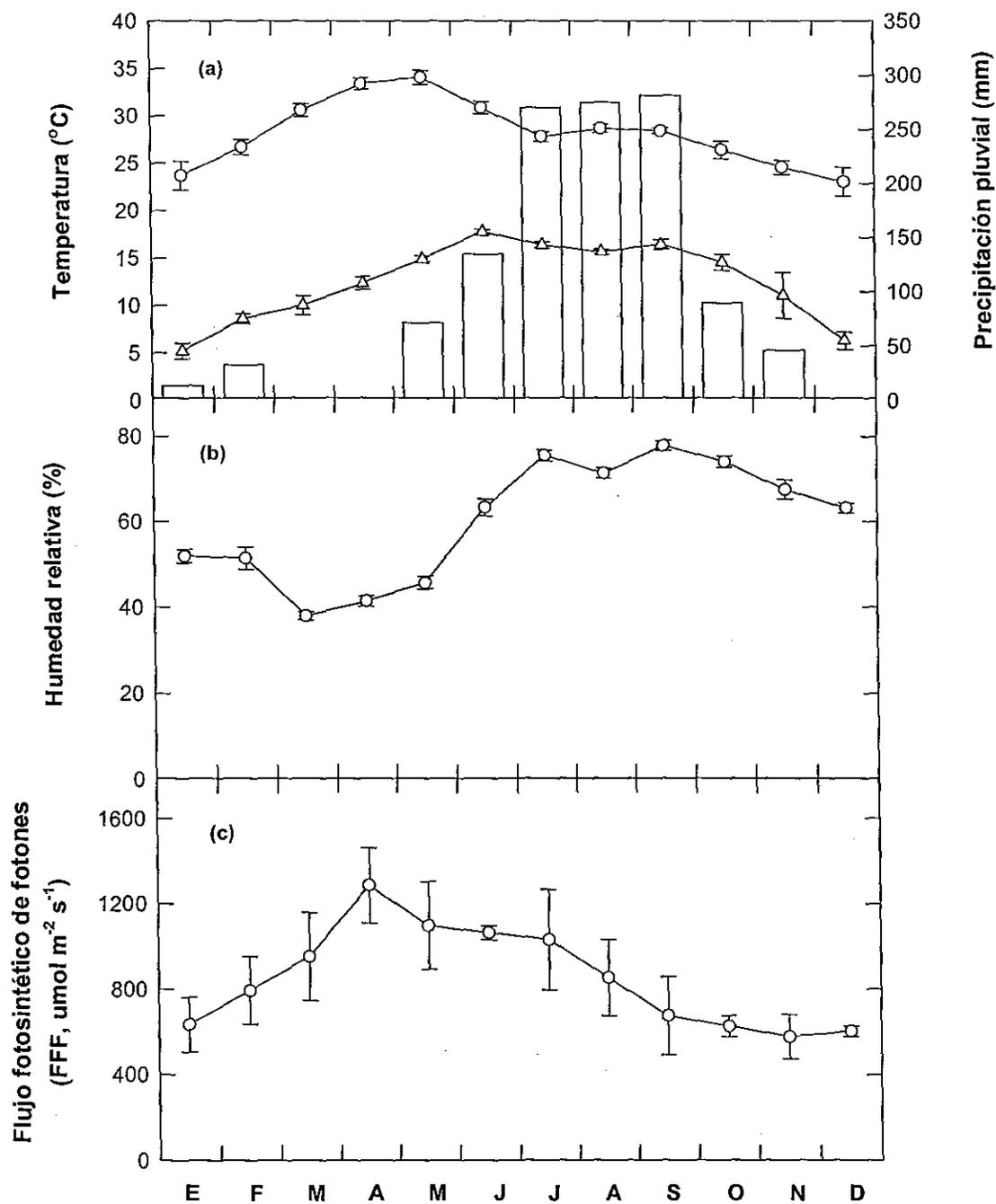
El porcentaje de humedad relativa se redujo de enero a marzo en un 61% y después se incremento gradualmente, alcanzando el valor más alto en el mes de septiembre (75%). A partir de este mes declinó gradualmente hasta el inicio del invierno (Fig. 3b).

El FFF se incrementó gradualmente del mes de enero ( $757 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) al mes de junio cuando casi duplicó el FFF registrado al empezar el año ( $1338 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Una vez que se inicia el periodo de lluvias se observa una reducción en el FFF debido al nubosidad. El promedio FFF de enero a junio fue de  $917 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , y de  $669 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de julio a diciembre (Fig. 3c).

El promedio de luz que se registró durante el experimento fue similar al registrado por Arceta *et al.* (1999), pero ligeramente bajo comparado con otros estudios en *A. tequilana* (Pimienta-Barrios *et al.*, 1999), *Stenocereus queretaroensis* y *Opuntia ficus-indica* (Pimienta-Barrios *et al.*, 2000), sin embargo los valores promedios mensuales son considerados como favorables para la fotosíntesis (Pimienta-Barrios *et al.*, 1999, Pimienta-Barrios *et al.*, 2000).



**Figura 3.** Temperatura promedio mensual mínima ( $\Delta$ ) y máxima (O); precipitación pluvial (barras) (a); humedad relativa (b); y flujo fotosintético de fotones promedio mensual (c); en la localidad de Las Agujas municipio de Zapopan, Jalisco, durante el 2001. Promedios  $\pm$  EE (n=30).

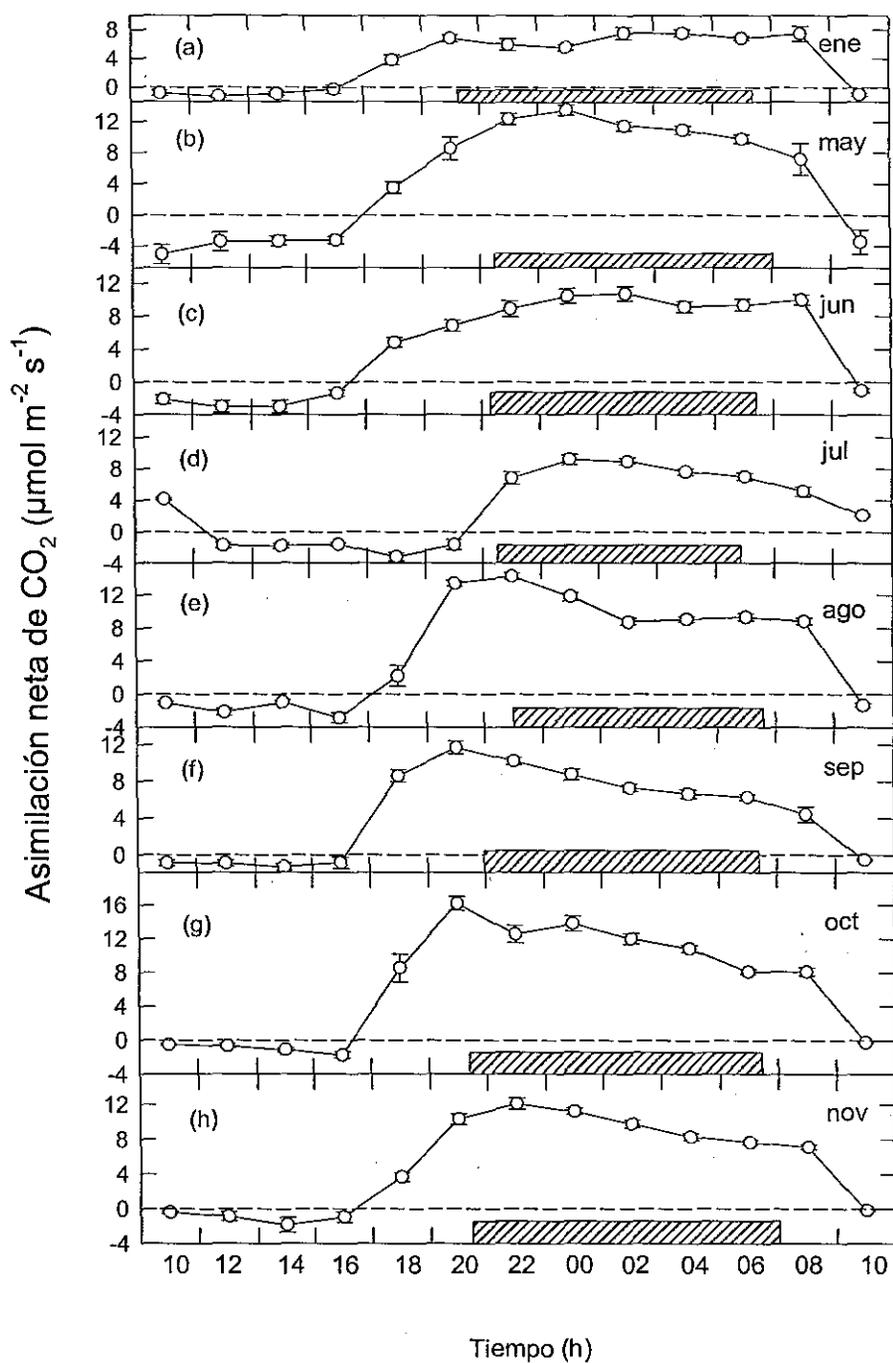


**Figura 4.** Temperatura promedio mensual mínima ( $\Delta$ ) y máxima (O), precipitación pluvial (barras) (a); humedad relativa (b), y flujo fotosintético de fotones promedio mensual (c); en la localidad de Las Agujas municipio de Zapopan, Jalisco, durante el 2002. Promedios  $\pm$  EE (n=30).

Para el 2002, las temperaturas promedio máxima y mínima fueron bajas de enero y febrero (Fig. 4a) aumentaron gradualmente de marzo a mayo y a partir de junio las temperaturas fueron más frescas tanto en la temperatura máxima como en la mínima al igual que en el 2001; el mes más caluroso fue mayo alcanzando una temperatura de 35 °C, las temperaturas descendieron a partir de noviembre, pero el mes más frío fue enero con una temperatura de 5°C como temperatura mínima. El porcentaje de humedad relativa fue menor de enero a mayo con un promedio de 46%, incrementándose a partir de junio hasta noviembre a un 72% (Fig. 4b). El promedio de luz registrado durante el 2002 fue de 848  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , observándose un descenso muy marcado a partir mayo hasta diciembre (Fig. 4c), la luz varió en promedio de 916  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de enero a abril, y de 815  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de mayo a diciembre (Fig. 4c).

La luz es un factor ambiental limitante para la fotosíntesis en plantas MAC (Gibson y Nobel, 1986), como es el caso del nopal (*O. ficus-indica*) y del pitayo (*S. queretaroensis*). En estas dos especies se ha encontrado que la actividad fotosintética presenta una estrecha dependencia con la disponibilidad de luz (Nobel y Hartsock, 1976; Nobel y Pimienta-Barrios, 1995; Pimienta-Barrios *et al.*, 1999). Sin embargo, la evaluación estacional de la actividad fotosintética de *A. tequilana* reveló que los valores instantáneos altos de fotosíntesis se obtuvieron en meses en que la disponibilidad de luz en el ambiente no fue alta.

En el 2001, únicamente se evaluó la fotosíntesis estacional en plantas de agave dentro del invernadero. Como es común en plantas MAC la mayor parte de la asimilación neta de  $\text{CO}_2$  ( $A_n$ ) para las plantas jóvenes de *A. tequilana* ocurre durante la noche (Fig.5). Sin embargo, llama la atención que en todos los meses (enero a noviembre) se registro asimilación diurna al final de la tarde y al empezar la mañana. La ganancia de carbono diurna fue de mayor duración en la tarde que en la mañana, y en algunos meses fue de 4 a 5 horas, en contraste con la mañana que fue de alrededor de 2 horas. Las tasas máximas instantáneas de asimilación ( $T_{ma}$ ) más altas de  $\text{CO}_2$  fueron registradas en octubre de 2001 (16  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; Fig. 5g; Tabla 1), y las más bajas en el mes de enero.

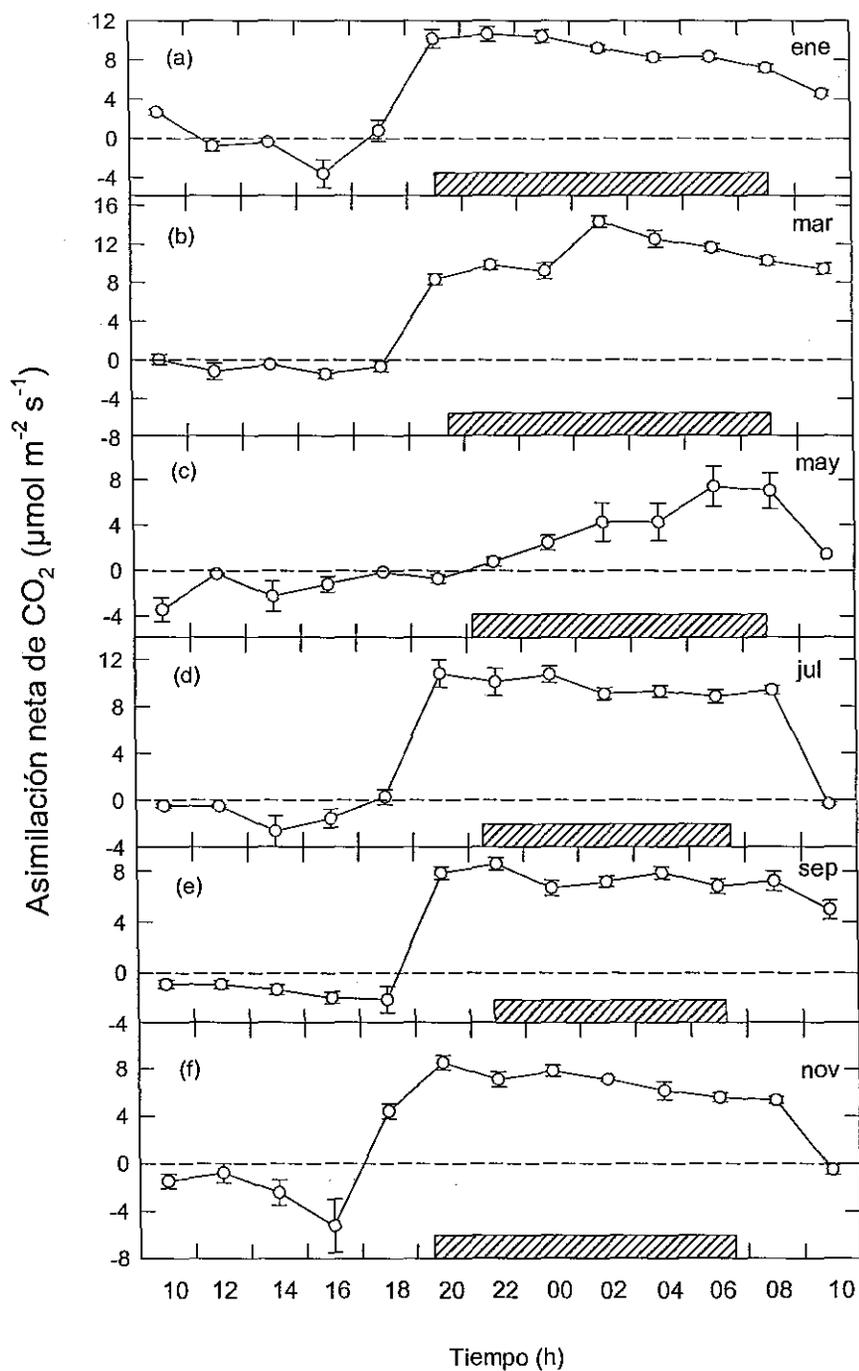


**Figura. 5.** Asimilación neta diaria de CO<sub>2</sub> durante 24 h en plantas jóvenes de *A. tequilana*, dentro de invernadero en 15-16 de enero de 2001 (a), 12-13 de mayo de 2001 (b), 14-15 de junio de 2001 (c); 17-18 de julio de 2001 (d), 30-31 de agosto de 2001 (e); 19-20 de septiembre de 2001 (f), 1-2 de octubre de 2001 (g); y 29-30 de noviembre de 2000 (h). Los datos son promedios  $\pm$  EE (n=6).

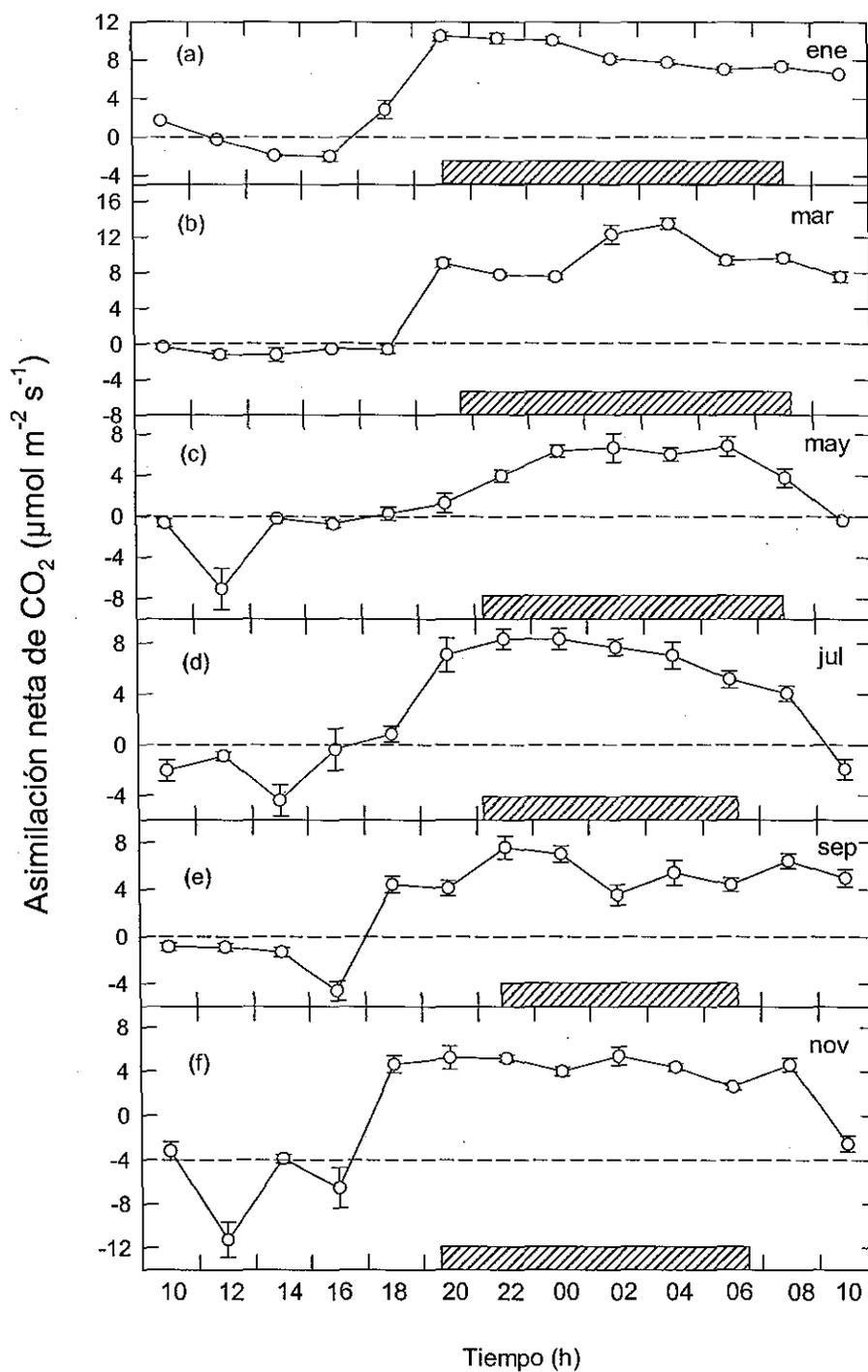
Con excepción de los meses de enero y junio, el resto de los meses presentaron tasas máxima de asimilación de CO<sub>2</sub> superiores a 12  $\mu\text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . También fueron registradas diferencias marcadas en la ocurrencia de los picos máximos de asimilación de CO<sub>2</sub>. En enero del 2001, el pico más alto fue registrado al empezar la mañana, en mayo y julio poco antes de la medianoche, y en agosto, septiembre y octubre al final de la tarde.

Durante el 2002, también ocurrió asimilación diurna al final de la tarde y al empezar la mañana, aunque los periodos de ganancia de carbono particularmente al final de la tarde fueron de menor duración que en el 2001. También se registraron diferencias en la aparición de los picos máximos de asimilación de CO<sub>2</sub>. Por ejemplo en enero del 2001, el pico máximo de asimilación fue registrado al empezar la mañana y en 2002 al final de la tarde y al empezar la noche (Fig. 6a); en mayo del 2001 fue poco antes de la medianoche y en mayo del 2002 al final de la noche. Si hubo coincidencia en los picos de asimilación máximos en noviembre de ambos años (Figs. 5 y 6). En julio del 2002 se registró una meseta de tasas altas de asimilación del final de la tarde hasta el amanecer (Fig. 6d). Esta asimilación diurna se atribuye a la activación de la enzima fotosintética conocida como RUBISCO, la cual en combinación con la enzima nocturna PEPcase, aumenta la fijación de CO<sub>2</sub>. (Nobel, 1994). Esta información es relevante, debido a que la activación de estas dos enzimas fotosintéticas incrementa la demanda de nitrógeno. Las tasas más altas de asimilación fueron registradas en marzo (14  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), aunque este valor fue menor que el registrado en el mes de octubre del 2001 (Fig. 6f).

La observación realizada fuera del invernadero en el 2002 mostraron algunas similitudes y diferencias con las realizadas en el invernadero. Por ejemplo, en el mes de enero, los valores más altos de asimilación fueron registrados al empezar la noche, disminuyendo gradualmente durante el transcurso de esta (Figs. 6a y 7a); en marzo también hay cierto grado de similitud, con un ascenso gradual en la asimilación que empieza al final de la tarde y continua hasta alrededor de la medianoche. En el mes de julio también se mantienen constantes las tasas altas durante el transcurso de la noche, aunque fuera del invernadero tienden a reducirse al final de la noche (Fig. 7d), y en el mismo mes es menos marcada dentro del



**Figura 6.** Asimilación neta diaria de CO<sub>2</sub> durante 24 h en plantas jóvenes de *A. tequilana* dentro de invernadero en 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); y 15-16 de noviembre de 2002 (f). Los datos son promedios  $\pm$  EE (n=6).



**Figura 7.** Asimilación neta diaria de CO<sub>2</sub> durante 24 h en plantas jóvenes de *A. tequilana* fuera del invernadero en 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); y 15-16 de noviembre de 2002 (f). Los datos son promedios  $\pm$  EE (n=6).

invernadero (Fig. 6d). En noviembre fuera del invernadero empieza la asimilación positiva más temprano (16 horas) que dentro del invernadero (18 horas) (Figs. 6f y 7f).

Los patrones de asimilación neta diaria de CO<sub>2</sub> registrados en *A. tequilana* mostraron algunas similitudes con los patrones observados en otras especies cultivadas de agave (*A. salmiana* y *Agave mapisaga*), sin embargo, esta última especie mostró las tasas instantáneas más altas y los valores más altos de asimilación neta diaria de CO<sub>2</sub>. Las tasas máximas de asimilación instantánea fueron de 34  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en *A. mapisaga* y 29  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en *A. Salmiana* (Nobel, 1988). En este estudio, las plantas jóvenes de *A. tequilana* mostraron tasas de asimilación similares a las encontradas en plantas adultas de esta misma especie (22  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; Pimienta-Barrios *et al.*, 1999).

En la tabla 1 se presentan los valores de asimilación neta diaria de CO<sub>2</sub> y las tasas máximas de asimilación de CO<sub>2</sub> para los diferentes meses durante el 2001 en el invernadero. En esta se observa que el valor más alto de asimilación neta diaria (616.7  $\text{mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ), así como las tasa máximas de asimilación de CO<sub>2</sub> (16.20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), fueron registrados en octubre. Ambos valores fueron menores para el mes de enero (346.21  $\text{mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$  y 7.52  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).

Al comparar los valores de la variación estacional en la asimilación neta diaria y la Tasa máxima de asimilación en el 2002 en plantas jóvenes de *A. tequilana* colocadas dentro y fuera de un invernadero, se encontró que el valor más alto de asimilación neta diaria fue registrado en el mes de marzo dentro del invernadero (519.98  $\text{mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$ ) y fuera del invernadero en los meses de enero-febrero y marzo (470.5  $\text{mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$  y 469. 2  $\text{mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$  respectivamente). Con relación a la tasa máxima de asimilación de CO<sub>2</sub> el valor más alto de asimilación fue encontrado en los meses de marzo dentro y fuera del invernadero. La asimilación neta diaria fue diferente en la mayoría de las plantas localizadas dentro y fuera del invernadero a excepción del mes de mayo en que este valor fue similar.

**Tabla 1.** Variación estacional en la Asimilación neta diaria (And) y la Tasa máxima de asimilación (Tma) en el 2001 durante 24 h en *A. tequilana* colocadas dentro de un invernadero.

FECHA	ASIMILACIÓN		TASA MÁXIMA	
	NETA DIARIA (mmol m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup> )		DE ASIMILACIÓN (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	
11-12 enero	346.21f		7.52g	
25-26 mayo	446.77d		13.47c	
29-30 junio	429.92e		10.70e	
27-28 julio	296.49g		9.15f	
31 agosto-01 septiembre	500.03b		14.30b	
27-28 septiembre	427.22e		11.68d	
25-26 octubre	616.79a		16.20a	
29-30 noviembre	474.92c		12.09d	

Medias dentro de cada columna seguidas por diferente letra fueron diferentes significativamente,  $P < 0.05$  según DMS (n=30).

**Tabla 2.** Variación estacional en la Asimilación neta diaria (And) y la Tasa máxima de asimilación (Tma) en el 2002 durante 24 h en *A. tequilana* colocadas dentro y fuera de un invernadero.

FECHA	ASIMILACIÓN		TASA MÁXIMA	
	NETA DIARIA (mmol m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup> )		DE ASIMILACIÓN (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	
	DENTRO	FUERA	DENTRO	FUERA
31 enero-01 febrero	484.61b	470.53a	10.62b	10.27b
21-22 marzo	519.98a	469.22a	14.32a	13.48a
30-31 mayo	148.96f	156.92d	7.38d	6.81d
10-11 julio	454.57c	278.94b	10.80b	8.33c
20-21 septiembre	369.97d	253.60c	8.57c	7.58c
15-16 noviembre	303.49e	80.29e	8.49c	5.38d

Medias dentro de cada columna seguidas por diferente letra fueron diferentes significativamente,  $P < 0.05$  según DMS (n=30).

Al comparar los valores del potencial hídrico ( $\Psi$ ) en el suelo y en las plantas jóvenes de *A. tequilana* durante el 2002 dentro y fuera de un invernadero, se encontró que en el suelo los valores de  $\Psi$  llegan hasta los -29.06 MPa en el mes de mayo dentro del invernadero y a -24.18 MPa fuera de este, en cambio en las hojas se registró una menor variación, y el valor más bajo fue de -1.13 MPa dentro del invernadero y de -1.02 MPa fuera del invernadero. La succulencia en las hojas característica de las plantas MAC cultivadas hace posible que se amortigüen los niveles de humedad en los tejidos, y no se llegue a condiciones de sequía fisiológica en estos (Nobel *et al.*, 2002; Nobel, 1994).

**Tabla 3.** Potencial hídrico en suelo y en hoja de plantas jóvenes de *A. tequilana* durante el 2002 dentro y fuera de un invernadero.

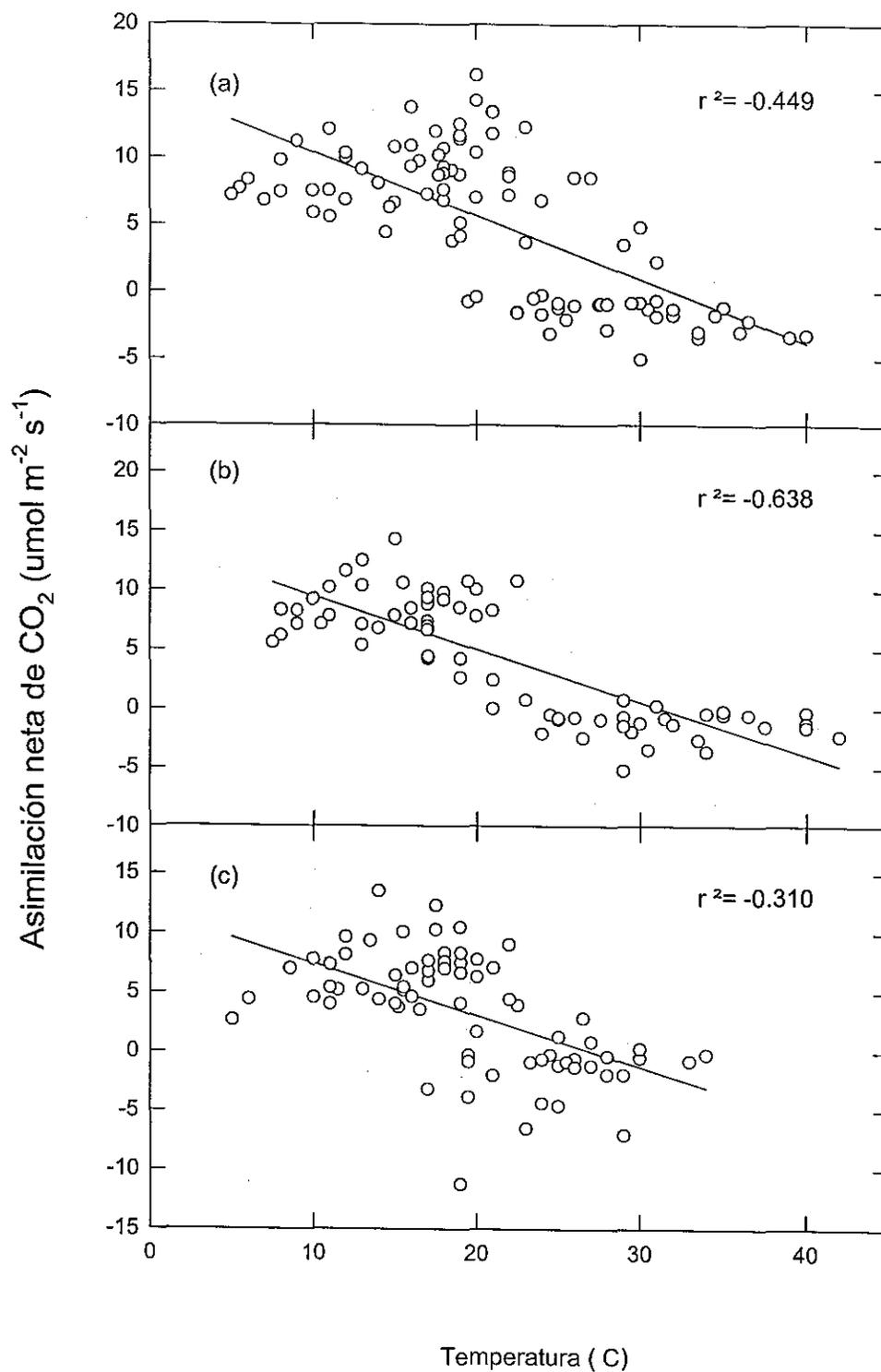
Fecha	Potencial hídrico en suelo (Mpa)		Potencial hídrico en hoja (Mpa)	
	Dentro	Fuera	Dentro	Fuera
31 enero-01 febrero	-15.6	-15.5	-0.97	-0.95
21-22 marzo	-0.17	-1.41	-0.80	-0.87
30-31 mayo	-29.06	-24.18	-1.13	-1.02
10-11 julio	-0.00	-0.02	-0.92	-0.78
20-21 septiembre	0.00	-0.00	-0.87	-0.84
15-16 noviembre	-0.44	-0.05	-0.85	-0.69

Con respecto a los factores que estuvieron relacionados con la fotosíntesis, en este trabajo encontramos que la temperatura del aire y la humedad relativa

presentan correlación significativa con la asimilación de CO<sub>2</sub> (Figs. 8 y 9). La asimilación de CO<sub>2</sub> está muy relacionada con la temperatura del aire ya que las tasas más altas fueron registradas entre los 7 y 15 °C. Las temperaturas superiores a 25 °C tienden a disminuir la asimilación neta de CO<sub>2</sub> tanto para el 2001 como para el 2002. Para el 2001 las plantas en invernadero presentaron un valor de correlación negativa ( $r^2 = -0.449$ ,  $p < 0.05$ ) entre estas dos variables (Fig. 8a). Sin embargo durante el 2002 la dependencia de la fotosíntesis a temperaturas frescas fue más notable, ya que en las plantas que se encontraban dentro del invernadero (Fig. 8b), mostraron un valor de correlación mayor ( $r^2 = -0.6$ ,  $p < 0.05$ ) que en las plantas que se encontraban fuera del invernadero ( $r^2 = -0.3$ ,  $p < 0.05$ ; Fig. 8 c).

Los valores negativos de asimilación neta diaria son comunes en plantas MAC cuando se presentan condiciones de estrés causados por factores físicos del ambiente adversos (e.g sequía, temperaturas altas), los cuales incrementan la respiración mitocondrial y la fotorrespiración (Pimienta *et al.*, 2000; Nobel *et al.*, 2002). Temperaturas nocturnas superiores a 15°C y temperaturas diurnas arriba de 30°C comúnmente reducen la ganancia de carbono en plantas MAC bajo condiciones de campo (Hascom y Ting, 1978; Nobel, 1988). Las noches cálidas comúnmente incrementan la respiración mitocondrial (Brandon, 1967; Kluge y Ting, 1978), y las temperaturas altas nocturnas particularmente durante la tarde, promueven la respiración mitocondrial y la fotorrespiración (Nobel, 1994; Maxwell *et al.*, 1997). Las temperaturas ambientales que se registraron durante los diferentes meses de estudio pueden ser consideradas como favorables para la fotosíntesis de *A. tequilana* (Nobel *et al.*, 1998; Pimienta-Barrios *et al.*, 2001; Pimienta-Barrios *et al.*, 2002 ).

Temperaturas moderadas en la noche favorecen la actividad de la enzima PEPcase, y la asimilación de CO<sub>2</sub> en plantas MAC en condiciones controladas (Israel y Nobel, 1995; Nobel, 1988; Nobel *et al.*, 1998), y en condiciones naturales (Hascom and Ting, 1978; Pimienta *et al.*, 1999).



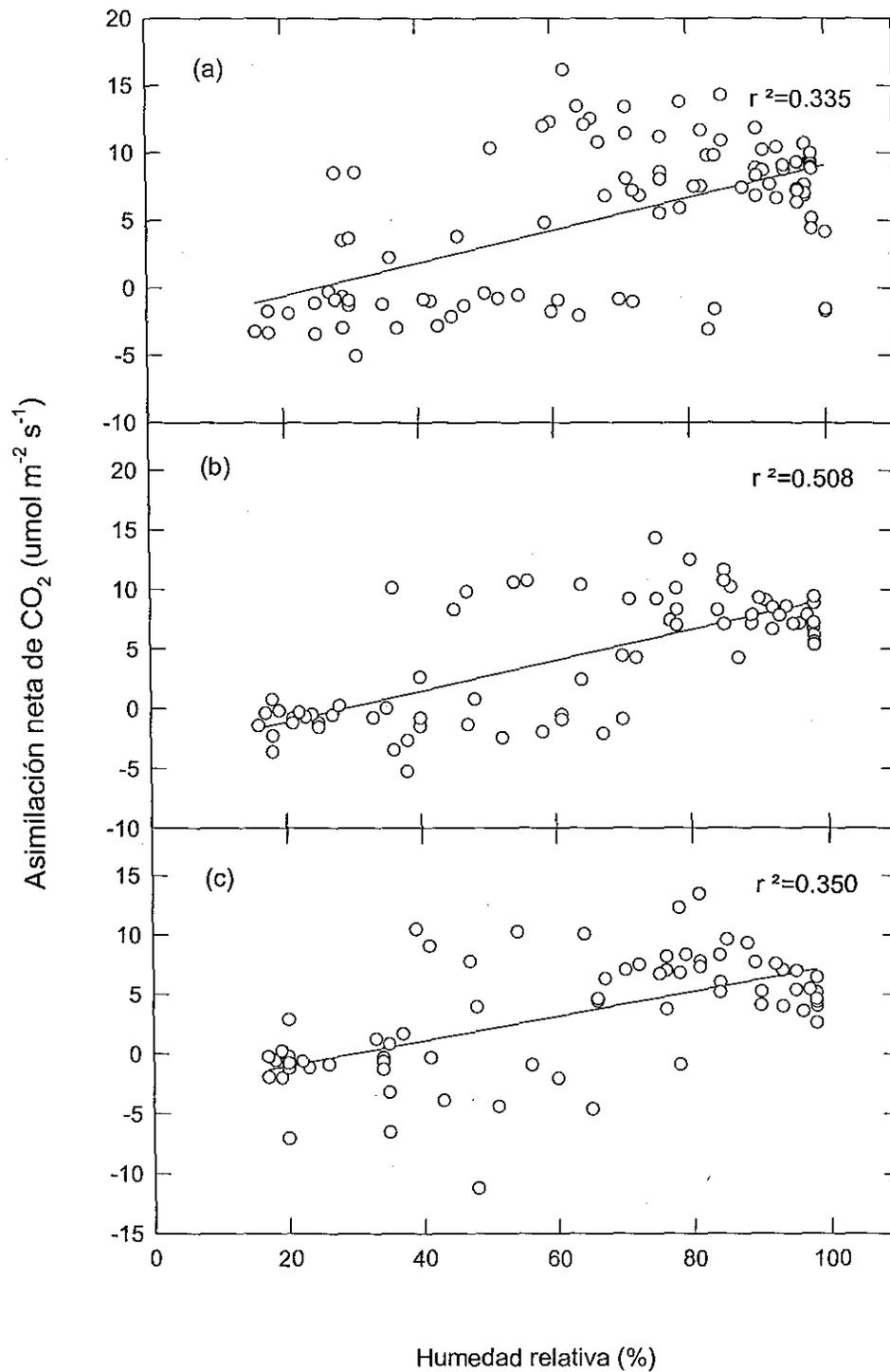
**Figura 8.** Relación entre la temperatura con la asimilación neta CO<sub>2</sub> en plantas jóvenes de *A. tequilana* durante el 2001 (a); y durante el 2002 dentro de un invernadero (b) y fuera de un invernadero (c).

La humedad relativa fue la variable ambiental que tuvo el valor de correlación más alto con la fotosíntesis, ya que las plantas reportaron mayores tasas de asimilación cuando esta variable aumentaba al comienzo de la noche (entre 80 y 95% de humedad relativa). Para el 2001 la captura de carbono empezó en el momento en que la humedad relativa fue superior al 60%. Durante la noche, cuando el porcentaje de humedad relativa aumentaba alrededor de la media noche aumentaban las tasas de asimilación (Fig. 9a), a pesar que el valor de correlación no fue alto ( $r^2 = 0.3$ ,  $p < 0.05$ ).

Durante el 2002 los valores de correlación fueron más altos, siendo estos valores mayores en las plantas de invernadero ( $r^2 = 0.5$ ,  $p < 0.05$ ; Fig. 9b), que en las plantas que se encontraban fuera de este (Fig. 9c). La alta humedad relativa del invernadero fue importante en determinar tasas más altas de fotosíntesis dentro del invernadero que fuera de este (Figs. 9a, 9 b y 9c).

La mayoría de los estudios ecofisiológicos reportan tasas instantáneas de asimilación neta, pero estos son realizados en una sola hora y fecha, bajo una condición fija de intensidad luminosa, por periodos cortos y generalmente en condiciones de ambiente controlado. Este tipo de mediciones de fotosíntesis son muy comunes en plantas con metabolismo fotosintético  $C_3$  y  $C_4$ , y existen escasos estudios en los que se integran los valores de asimilación instantánea de  $CO_2$  durante 24 h. Las mediciones en las que se integran las mediciones instantáneas de fotosíntesis por 24 h son muy valiosas para estimar las ganancias netas diarias de carbono, ya que estas incluyen las pérdidas por respiración (Nobel, 1991; Pimienta *et al.*, 2002).

En el caso de este trabajo se reportan los valores de asimilación neta diaria de  $CO_2$  durante dos años, lo cual es una medida mas realista del efecto de los factores ambientales sobre la fotosíntesis, ya que las mediciones durante diferentes horas del día y durante las diferentes estaciones del año nos permiten evaluar la relación entre ellos.



**Figura 9.** Relación entre la humedad relativa con la asimilación neta CO<sub>2</sub> en plantas jóvenes de *A. tequilana* durante el 2001 (a); y durante el 2002 dentro de un invernadero (b) y fuera de un invernadero (c).

En cuanto a la colonización de raíces por hongos micorrícicos *A. tequilana* presenta un patrón estacional similar a las encontradas en algunos estudios con especies MAC (Arceta *et al.*, 1999; Pimienta *et al.*, 2002, 2003)

## 5. CONCLUSIONES

La temperatura del aire, la intensidad de luz, y la humedad relativa en el aire son factores que influyen en la fotosíntesis.

La mayor asimilación de CO<sub>2</sub> en las plantas de agave estuvo relacionada con una alta humedad relativa y con las temperaturas moderadas. *A. tequilana* tuvo mejor respuesta en la asimilación de CO<sub>2</sub> y en crecimiento en las condiciones ambientales del invernadero.

*A. tequilana* presenta un patrón estacional de crecimiento, presenta tres fases: logarítmica, exponencial y estable.

En el presente estudio *A. tequilana* es susceptible a ser colonizado por hongos micorrícicos

**BLIBLIOGRAFIA**

Arceta, G. I. E., E. Pimienta-Barrios, J. Zañudo-Hernández, V. Olalde. 1999. Caracterización fenológica y fisiológica de una población silvestre de pitayo *Stenocereus queretaroensis* (Weber) Buxbaum asociada con micorrizas vesículo-arbusculares. *Agrociencia*. 33: 91-98.

Brandon, P. C. 1967. Temperature features of enzymes affecting Crassulacean acid metabolism. *Plant physiology*. 42: 977-984.

Hascom, Z. y I. P. Ting. 1978. Irrigations magnifies CAM-photosynthesis in *Opuntia basilaris* (Cactaceae). *Oecologia*. 33:1-15.

Israel A. A. y Nobel P. S. 1995. Growth temperature versus CO<sub>2</sub> uptake, Rubisco and PEPcase activities, and enzyme high temperature sensitivities for a CAM plant. *Plant Physiology and Biochemistry* 33: 345-331.

Gentry, H. S. 1982. *Agaves of continental North America*. University of Arizona Press, Tucson Arizona. 586 p.

Gibson, A. C. y P. S. Nobel. 1986. *The cactus Primer*. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts. 240 p.

Jensen, W. A. 1962. *Botanical histochemistry*. W. H. Freeman and Co. San Francisco, CA. 260 p.

Kluge, M. 1979. Photosynthesis II photosynthetic, carbon metabolism and related process, The flow of carbon in Crassulacean acid Metabolism (CAM). *In*: Gibbs, M. y E. Latzko. *Encyclopedia of plants physiology*. New series. Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo. Tomo 2. Ed Springer-Verlag. pp 113-125.

Kluge, M. y I. P. Ting. 1978. Crassulacean Acid Metabolism. Heidelberg Berlin. Springer Verlag. 500 p.

Little, T. M. y F. J. Hills. 1976. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Trillas. 270 p.

Luna, R. 1991. La historia del tequila, de sus regiones y sus hombres. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes. México, D.F. 302 p.

Maxwell, K., S. von Caemmerer y J.R. Evans. 1997. Is a low internal conductance to CO<sub>2</sub> diffusion a consequence of succulence in plants with crassulacean acid metabolismo. Australian Journal of Plant Physiology 24: 777-786.

McGonigle, T. P., M. H. Miller, D. G. Evans, G. L. Fairchild y J. A. Swan. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytologist 115:495-501.

Nobel, P. S. 1985. PAR, water and temperature limitations on the productivity of cultivated *Agave fourcroydes* (henequen). Journal of Applied Ecology 22: 157-173.

Nobel, P. S. 1988. Environmental biology of Agaves and Cacti. Cambridge University Press. New York. 270p.

Nobel, P.S. 1991. Achievable productivities of certain CAM plants: basis for high values compared with C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants. New Phytologist 119: 183-2055.

Nobel, P. S. 1994. Remarkable agaves and cacti. Cambridge University Press. New York. USA. 166 p.

Nobel, P. S. y T. L. Hartsock. 1976. Watering converts a CAM plants to daytime CO<sub>2</sub> uptake. Nature. 262: 574-576.

Nobel, P. S. y A. G. Valenzuela. 1986. Environmental responses and productivity of the CAM plant, *Agave tequilana* W. *Agricultural Forest Meteorology*. 39: 319-334.

Nobel, P. S. y E. Pimienta-Barrios. 1995. Monthly stem elongation for *Stenocereus queretaroensis*: relationships to environmental conditions, net CO<sub>2</sub> uptake and seasonal variations in sugar content. *Environmental and Experimental Botany* 35:17-24.

Nobel, P.S., M. Castañeda, E. Pimienta-Barrios and E. Ruiz. 1998. Temperature influences on leaf CO<sub>2</sub> exchange, cell viability and cultivation range for *Agave tequilana*. *Journal of Arid Environments* 39: 1-9.

Nobel, P. S., E. Pimienta-Barrios, J. Zañudo-Hernández and B.C. Ramírez Hernández. 2002 In Press. Historical aspects and net CO<sub>2</sub> uptake for cultivated Crassulacean acid metabolism plants in México. *Annual Applied Biologists* 140:133-142

Phyllips, J. M. y D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of British Mycological Society* 55:158-161.

Pfeiff, M. 1995. El tequila, regalo del sol. *Selecciones del Reader's digest*. México. pp 59-65.

Pimienta-Barrios, E., C. Robles-Murguía, J. A. Ruíz-Corral, P. S. Nobel, y J. García-Galindo. 1999. Regiones térmicas óptimas y marginales para el cultivo de *Agave tequilana* en el estado de Jalisco. Ed. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco. 47 p.

Pimienta-Barrios, E., J. Zañudo, E. Yopez, E. Pimienta-Barrios, y P.S. Nobel. 2000. Seasonal variation of net CO<sub>2</sub> uptake for cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) and pitayo (*Stenocereus queretaroensis*) in a semi-arid environment. *Journal of Arid. Enviroments* 44: 73-83.

Pimienta-Barrios, E, C. Robles-Murguia, y P. S. Nobel. 2001. Net CO<sub>2</sub> uptake for *Agave tequilana* in a warm and a temperate environment. *Biotropica*. 33: 312-318.

Solis, J., H. Gonzalez, J.L. Leyva, A. Equihua, F.J. Flores y A. Martínez. 2001. *Scyphophorus acupunctatus* GYLLENHAL, Plaga del Agave Tequilero en Jalisco, Mexico. *Agrociencia* 35: 671-683 pp.

Taiz, L, E. Zeiger. 2002. *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Inc., Publishers. Sunderland, Massachussets. USA., 309-374 pp.

Valenzuela, Z. A. G. 1994. *El agave tequilero, su cultivo e industrialización*. Monsanto. Guadalajara, Jalisco. México, pp 9.

Valenzuela, Z. A. G. 1997. *El agave tequilero, su cultivo e industria*. Litteris editores. 204 p.

Wardlaw, A. C. 2001. *Practical statistics for experimental biologists*. Wiley. 250 p.