



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

El papel de la cera en la acumulación de ácidos orgánicos, fotosíntesis y dinámica estomática en *Echeveria laui* (CRASSULACEAE).

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)

PRESENTA:

Biól. María del Rocío Reyero Saavedra

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Elias Piedra Ibarra.
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

COMITÉ TUTOR: Dr. Victor Manuel Chávez Ávila.
Instituto de Biología, UNAM.
Dr. César Mateo Flores Ortíz.
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

MÉXICO, D.F. ABRIL, 2014.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

El papel de la cera en la acumulación de ácidos orgánicos, fotosíntesis y dinámica estomática en *Echeveria laui* (CRASSULACEAE).

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)

PRESENTA:

Biól. María del Rocío Reyero Saavedra

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Elias Piedra Ibarra.
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

COMITÉ TUTOR: Dr. Victor Manuel Chávez Ávila.
Instituto de Biología, UNAM.
Dr. César Mateo Flores Ortíz.
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

MÉXICO, D.F. ABRIL, 2014.

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 11 de noviembre de 2013, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)** de la alumna **REYERO SAAVEDRA MARÍA DEL ROCÍO** con número de cuenta 404028965, con la tesis titulada **"El papel de la cera en la acumulación de ácidos orgánicos, fotosíntesis y dinámica estomática en *Echeveria laui* (CRASSULACEAE)"**, realizada bajo la dirección del **DR. ELIAS PIEDRA IBARRA:**

Presidente: DR. IGNACIO PEÑALOSA CASTRO
Vocal: DR. JUAN GERARDO ORTÍZ MONTIEL
Secretario: DR. VICTOR MANUEL CHÁVEZ ÁVILA
Suplente: DR. JORGE EDUARDO CAMPOS CONTRERAS
Suplente: DR. CÉSAR MATEO FLORES ORTÍZ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 14 de febrero de 2014.

María del Coro Arizmendi
DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a)

AGRADECIMIENTOS.

Deseo agradecer al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM por la oportunidad de realizar este posgrado y el apoyo brindado para culminar el mismo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada con No. de registro 239879.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECyT) por la beca otorgada con No. de registro 12BTM0284.

A la Fundación para la Reserva de la Biosfera Cuicatlán, A. C. por los ejemplares y préstamo de instalaciones del Vivero La Iberia con registro UMA: MX/VIV-CO-218-OAX/05, durante el período de Mayo (2010) – Abril (2011).

A mi Tutor el Dr. Elias Piedra Ibarra,

Al Dr. Victor Manuel Chávez Ávila, miembro del comité tutor.

Al Dr. César Mateo Flores Ortíz, miembro del comité tutor.

AGRADECIMIENTOS A TITULO PERSONAL.

Deseo agradecer a mi padre y madre (José y Rosa María) por todo el apoyo, cariño y paciencia brindada para empezar, seguir y culminar estos estudios que enriquecen mi formación. Muchas gracias, los quiero mucho.

Muchas gracias por todo lo que me ha enseñado y apoyado mi profesor Dr. Juan Gerardo Ortiz Montiel. No solo ha sido mi jefe, profesor y tutor, sino que también gran amigo y ejemplo a seguir. Gracias por todas las oportunidades que me ha brindado y por todo el conocimiento compartido, en verdad le tengo gran estima, cariño y respeto, siempre será un modelo a seguir, tanto como investigador, profesor y ser humano.

!!!!Al super equipo de trabajo!!!! Integrado por los profesores Gerardo, Elias y Yolanda. Y por el alumno y colega Miguel Ángel. Definitivamente, este proyecto hubiera sido imposible de realizar sin un equipo de trabajo, tan completo y extraordinario.

Al profesor Elias, muchas gracias por sus correcciones, enseñanzas y tiempo dedicado para este proyecto. Ahora culmina en parte, gracias a todo el apoyo que me brindo.

A la profesora Yolanda (mi compañera y amiga del super equipo). Sin ella esta travesía hubiera sido muy difícil. No solo por su apoyo brindado en el proyecto, también por su calidez, consejos y cuidados que tuvo conmigo. Te quiero Yola.

A mi colega y amigo Miguel Ángel, que siempre me ha apoyado. Gracias por el tiempo, consejos y porque sé que siempre puedo contar contigo, no importa que estemos a más de 50°C, eres un profesional y no hubiera sido nada sencillo realizar todos estos experimentos sin tu ayuda.

Al Dr. Victor Manuel Chávez Ávila por el tiempo, sugerencias y correcciones hechas en este proyecto. También agradezco las palabras de aliento.

Al Dr. César Mateo Flores Ortiz, por las correcciones y el apoyo para poder realizar unas pruebas de este proyecto, así también como las enseñanzas para su interpretación.

Al profesor Jerónimo Reyes, por todas las facilidades y apoyo para la realización de este proyecto. Usted es uno de los más importantes para la realización del mismo.

Al señor Antonio y la señora Josefina de Cuicatlán, Oax, que siempre estuvieron al pendiente de nosotros y nos auxiliaron en nuestra estancia durante la elaboración del proyecto.

Al Dr. Jorge Campos, por sus correcciones precisas y oportunas.

A la M. en C. María Teresa Ortiz Melo “hermanita”, gracias por tu apoyo y amistad. Eres una excelente colega y amiga.

Al biólogo Jamil Wong, quien me brindó su apoyo y amistad. Aunque estés lejos, no te hemos olvidado. ¡Suerte en tu trabajo!

Al profesor Oswaldo por su invaluable ayuda con el inglés.

A mis amigos de siempre, Wendy y Led, que no importa que pase el tiempo seguimos ahí.

A mis amigas Lorena, Irais y Monse, que siempre me apoyan. Las quiero chicas.

A los chicos del laboratorio de cultivo de tejidos de la UMF, Monste y Tomás, que siempre brindan su apoyo a todos.

A mis profesores del posgrado, quienes siguen impartiendo clases con el mismo entusiasmo y profesionalismo. Nunca me canso de aprender de ellos.

Al profesor Luis Barbo, quien me ayudo en el manejo de equipo e interpretación de datos.

Y por qué no... ¡a la ciencia!

DEDICATORIA.

Para mi familia, mi mayor apoyo y orgullo. Sin ellos esto sería imposible, un triunfo más, que es gracias a ellos y para ellos.

Para el súper equipo (Gerardo, Elias, Yolanda y Miguel Ángel).

Para mí.

ÍNDICE.

Lista de cuadros y figuras	2
Resumen.	8
Abstract.	9
Introducción	10
Objetivos.	12
Antecedentes.	13
Metodología.	16
Resultados.	24
Santiago Quiotepec	24
Vivero Intensidad Baja	33
Vivero Intensidad Alta	55
Invernadero	72
Análisis de cera	94
Generación de cera	96
Discusión.	100
Conclusión.	110
Literatura citada.	111

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.

- Cuadro 1. Parámetros del análisis OJIP de la cinética de la emisión de la fluorescencia de la clorofila *a*.
- Cuadro 2. Resumen del análisis OJIP. Mayo, Julio y Agosto (2010). Sitio Quiotepec.
- Cuadro 3. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica de Mayo y Junio (2010). Sitio: Vivero Intensidad Baja.
- Cuadro 4. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica de Julio y Agosto (2010). Sitio: Vivero Intensidad Baja.
- Cuadro 5. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica de Octubre y Noviembre (2010). Sitio: Vivero Intensidad Baja.
- Cuadro 6. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica de Diciembre (2010) y Enero (2011). Sitio: Vivero Intensidad Baja.
- Cuadro 7. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica de Febrero, Marzo y Abril (2011). Sitio: Vivero Intensidad Baja.
- Cuadro 8. Resumen del análisis OJIP. Mayo 2010- Abril 2011. Sitio Vivero Intensidad Baja.
- Cuadro 9. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica de Mayo, Junio, Agosto, Octubre (2010), Marzo y Abril (2011). Sitio: Vivero Intensidad Alta.
- Cuadro 10. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica de Julio, Noviembre, Diciembre (2010) y Enero (2011). Sitio: Vivero Intensidad Alta.
- Cuadro 11. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica de Febrero (2011). Sitio: Vivero Intensidad Alta.
- Cuadro 12. Resumen del análisis OJIP. Mayo 2010- Abril 2011. Sitio Vivero Intensidad Alta.
- Cuadro 13. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica de Junio, Agosto, Noviembre y Diciembre (2010). Sitio: Invernadero.
- Cuadro 14. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica de Mayo (2010). Sitio: Invernadero.
- Cuadro 15. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica de Julio y Octubre (2010). Sitio: Invernadero.
- Cuadro 16. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica de Enero, Febrero y Abril (2011). Sitio: Invernadero.
- Cuadro 17. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica de Marzo (2011) Sitio: Invernadero.

- Cuadro 18. Resumen del análisis OJIP. Mayo 2010- Abril 2011. Sitio Invernadero.
- Figura 1. (A) Representación esquemática de la cadena transportadora de electrones.
(B) Representación esquemática de la relación entre los eventos del transporte electrónico y la emisión de fluorescencia de la clorofila *a*.
- Figura 2. Temperatura de los meses de Mayo, Junio, Julio, Agosto y Octubre (2010) entre las 13:30 y 16:00 hrs.
- Figura 3. Humedad Relativa de los meses de Mayo, Junio, Julio, Agosto y Octubre (2010) entre las 13:30 y 16:00 hrs.
- Figura 4. Individuos de *E. laui* en Santiago Quiotepec.
- Figura 5. Análisis OJIP. Quiotepec. Mayo 2010.
- Figura 6. Modelo de flujo de hoja. Quiotepec. Mayo 2010.
- Figura 7. Gráficas radiales de los valores de la teoría de flujo de energía en biomembranas. Quiotepec. Mayo 2010.
- Figura 8. Análisis OJIP. Quiotepec. Julio 2010.
- Figura 9. Modelo de flujo de hoja. Quiotepec. Julio 2010.
- Figura 10. Gráficas radiales de los valores de la teoría de flujo de energía en biomembranas. Quiotepec. Julio 2010.
- Figura 11. Análisis OJIP. Quiotepec. Agosto 2010.
- Figura 12. Modelo de flujo de hoja. Quiotepec. Agosto 2010.
- Figura 13. Gráficas radiales de los valores de la teoría de flujo de energía en biomembranas. Quiotepec. Agosto 2010.
- Figura 14. Condiciones ambientales en Vivero Intensidad Baja (Mayo 2010-Abril 2011).
- Figura 15. Análisis OJIP. Vivero Intensidad Baja. Mayo y Junio (2010).
- Figura 16. Modelo de flujo de hoja. Vivero Intensidad Baja. Mayo y Junio (2010).
- Figura 17. Gráficas radiales de los valores de la teoría de flujo de energía en biomembranas. Vivero Intensidad Baja. Mayo y Junio (2010).
- Figura 18. Análisis OJIP. Vivero Intensidad Baja. Julio y Agosto (2010).
- Figura 19. Modelo de flujo de hoja. Vivero Intensidad Baja. Julio y Agosto (2010).
- Figura 20. Gráficas radiales de los valores de la teoría de flujo de energía en biomembranas. Vivero Intensidad Baja. Julio y Agosto (2010).
- Figura 21. Análisis OJIP. Vivero Intensidad Baja. Octubre y Noviembre (2010).

- Figura 22. Modelo de flujo de hoja. Vivero Intensidad Baja. Octubre y Noviembre (2010).
- Figura 23. Gráficas radiales de los valores de la teoría de flujo de energía en biomembranas. Vivero Intensidad Baja. Octubre y Noviembre (2010).
- Figura 24. Análisis OJIP. Vivero Intensidad Baja. Diciembre (2010) y Enero (2011).
- Figura 25. Modelo de flujo de hoja. Vivero Intensidad Baja. Diciembre (2010) y Enero (2011).
- Figura 26. Gráficas radiales de los valores de la teoría de flujo de energía en biomembranas. Vivero Intensidad Baja. Diciembre (2010) y Enero (2011).
- Figura 27. Análisis OJIP. Vivero Intensidad Baja. Febrero, Marzo y Abril (2011).
- Figura 28. Modelo de flujo de hoja. Vivero Intensidad Baja. Febrero, Marzo y Abril (2011).
- Figura 29. Gráficas radiales de los valores de la teoría de flujo de energía en biomembranas. Vivero Intensidad Baja. Febrero, Marzo y Abril (2011).
- Figura 30. Acumulación de ácidos orgánicos. Gráfica representativa de los meses de Mayo y Junio (2010). Vivero Intensidad Baja.
- Figura 31. Dinámica estomática. Gráfica representativa de los meses de Junio y Agosto (2010). Vivero Intensidad Baja.
- Figura 32. Dinámica estomática. Gráfica representativa de los meses de Septiembre (2010) y Marzo (2011). Vivero Intensidad Baja.
- Figura 33. Temperatura de las hojas de *E. laui*. Gráfica del mes de Julio (2010). Vivero Intensidad Baja.
- Figura 34. Concentración de clorofila a. Gráfica representativa de los meses de Junio y Julio (2010). Vivero Intensidad Baja.
- Figura 35. Concentración de clorofila b. Gráfica representativa de los meses de Junio y Septiembre (2010). Vivero Intensidad Baja.
- Figura 36. Concentración de clorofilas totales. Gráfica representativa de los meses de Junio y Julio (2010). Vivero Intensidad Baja.
- Figura 37. Relación de clorofila a/b. Gráfica del mes de Marzo (2010). Vivero Intensidad Baja.
- Figura 38. Cromatograma del perfil de pigmentos de plantas con cera y sin cera de *E. laui*. Al finalizar el experimento (Mayo 2010-Abril 2011). Vivero Intensidad Baja.
- Figura 39. Espectro de absorción de la clorofila a.
- Figura 40. Espectro de absorción de la clorofila b.
- Figura 41. Condiciones ambientales en Vivero Intensidad Alta (Mayo 2010-Abril 2011).
- Figura 42. Análisis OJIP. Vivero Intensidad Alta. Mayo, Junio, Agosto, Octubre (2010), Marzo, Abril (2011).

- Figura 43. Modelo de flujo de hoja. Vivero Intensidad Alta. Mayo, Junio, Agosto, Octubre (2010), Marzo, Abril (2011).
- Figura 44. Gráficas radiales de los valores de la teoría de flujo de energía en biomembranas. Vivero Intensidad Alta. Mayo, Junio, Agosto, Octubre (2010), Marzo, Abril (2011).
- Figura 45. Análisis OJIP. Vivero Intensidad Alta. Julio, Noviembre, Diciembre (2010) y Enero (2011).
- Figura 46. Modelo de flujo de hoja. Vivero Intensidad Alta. Julio y Noviembre (2010).
- Figura 47. Modelo de flujo de hoja. Vivero Intensidad Alta. Diciembre (2010) y Enero (2011).
- Figura 48. Gráficas radiales de los valores de la teoría de flujo de energía en biomembranas. Vivero Intensidad Alta. Julio, Noviembre (2010).
- Figura 49. Gráficas radiales de los valores de la teoría de flujo de energía en biomembranas. Vivero Intensidad Alta. Diciembre (2010) y Enero (2011).
- Figura 50. Análisis OJIP. Vivero Intensidad Alta. Febrero (2011).
- Figura 51. Modelo de flujo de hoja. Vivero Intensidad Alta. Febrero (2011).
- Figura 52. Gráficas radiales de los valores de la teoría de flujo de energía en biomembranas. Vivero Intensidad Alta. Febrero (2011).
- Figura 53. Acumulación de ácidos orgánicos. Gráfica de Mayo (2010). Vivero Intensidad Alta.
- Figura 54. Acumulación de ácidos orgánicos. Gráfica representativa de los meses de Septiembre, Diciembre (2010) y Marzo (2011). Vivero Intensidad Alta.
- Figura 55. Temperatura de hojas de *E. laui*. Gráfica del mes de Agosto (2010). Vivero Intensidad Alta.
- Figura 56. Concentración de clorofila a. Gráfica representativa del mes de Abril (2011). Vivero Intensidad Alta.
- Figura 57. Concentración de clorofila b. Gráfica representativa del mes de Septiembre (2010). Vivero Intensidad Alta.
- Figura 58. Cromatograma del perfil de pigmentos de plantas con cera y sin cera de *E. laui*. Al finalizar el experimento (Mayo 2010-Abril 2011). Vivero Intensidad Alta.
- Figura 59. Espectro de absorción de la violaxantina.
- Figura 60. Espectro de absorción del α -caroteno.
- Figura 61. Espectro de absorción del β -caroteno.
- Figura 62. Espectro de absorción de la zeaxantina.
- Figura 63. Condiciones ambientales anual en Invernadero (Mayo 2010-Abril 2011).
- Figura 64. Análisis OJIP. Invernadero. Junio, Agosto, Noviembre y Diciembre (2010).

- Figura 65. Modelo de flujo de hoja. Invernadero. Junio, Agosto, Noviembre y Diciembre (2010).
- Figura 66. Gráficas radiales de los valores de la teoría de flujo de energía en biomembranas. Invernadero. Junio, Agosto, Noviembre y Diciembre (2010).
- Figura 67. Análisis OJIP. Invernadero. Mayo (2010).
- Figura 68. Modelo de flujo de hoja. Invernadero. Mayo (2010).
- Figura 69. Gráficas radiales de los valores de la teoría de flujo de energía en biomembranas. Invernadero. Mayo (2010).
- Figura 70. Análisis OJIP. Invernadero. Julio y Octubre (2010).
- Figura 71. Modelo de flujo de hoja. Invernadero. Julio y Octubre (2010).
- Figura 72. Gráficas radiales de los valores de la teoría de flujo de energía en biomembranas. Invernadero. Julio y Octubre (2010).
- Figura 73. Análisis OJIP. Invernadero. Enero, Febrero y Abril (2011).
- Figura 74. Modelo de flujo de hoja. Invernadero. Enero, Febrero y Abril (2011).
- Figura 75. Gráficas radiales de los valores de la teoría de flujo de energía en biomembranas. Invernadero. Enero, Febrero y Abril (2011).
- Figura 76. Análisis OJIP. Invernadero. Marzo (2011).
- Figura 77. Modelo de flujo de hoja. Invernadero. Marzo (2011).
- Figura 78. Gráficas radiales de los valores de la teoría de flujo de energía en biomembranas. Invernadero. Marzo (2011).
- Figura 79. Acumulación de ácidos orgánicos. Gráfica representativa de Junio, Octubre y Noviembre (2010). Invernadero.
- Figura 80. Dinámica estomática. Gráfica representativa del mes de Noviembre (2010). Invernadero.
- Figura 81. Dinámica estomática. Gráfica representativa de los meses de Diciembre (2010), Febrero y Abril (2011). Invernadero.
- Figura 82. Temperatura de hojas de *E. laui*. Gráfica del mes Enero (2011). Invernadero.
- Figura 83. Concentración de clorofila **a**. Gráfica representativa de los meses de Diciembre, Enero, Marzo y Abril (2011). Invernadero.
- Figura 84. Concentración de clorofila **b**. Gráfica representativa de los meses de Diciembre (2010) y Enero (2011). Invernadero.
- Figura 85. Concentración de clorofila **b**. Gráfica representativa del mes de Junio (2010).
- Figura 86. Concentración de clorofilas totales. Gráfica representativa de los meses de Diciembre (2010) y Enero (2011). Invernadero.

- Figura 87. Relación de clorofila a/b. Gráfica de los meses de Mayo, Junio, Julio (2010), Enero y Febrero (2011). Invernadero.
- Figura 88. Cromatograma de la composición de la cera de hoja de *E. laui*.
- Figura 89. Espectro de masas del compuesto principal de la cera de *E. laui*.
- Figura 90. Generación de cera. Vivero Intensidad Baja.
- Figura 91. Generación de cera. Vivero Intensidad Alta.
- Figura 92. Generación de cera. Invernadero.

RESUMEN.

La cera en las plantas confiere protección contra radiación ultravioleta y patógenos, así mismo disminuye la pérdida de agua no estomática y el depósito de polvo. Esta característica la poseen algunas plantas que presentan el metabolismo ácido de las crasuláceas (MAC), una de ellas es *Echeveria laui*, crasulácea que se caracteriza por tener la superficie foliar cubierta con grandes cantidades de cera, la cual puede ayudarle a sobrevivir en su ambiente en condiciones extremas de temperatura, déficit hídrico e intensidades de luz elevadas.

Con el objetivo de determinar el papel de la cera en la fotosíntesis mediante la medición de la fluorescencia de la clorofila *a*, la acumulación de ácidos orgánicos y dinámica estomática en *E. laui*, se evaluó durante 12 meses solamente la fluorescencia en una población de esta crasulácea y el resto de las variables se evaluó en plantas provenientes de vivero expuestas a tres diferentes condiciones ambientales. Además se obtuvo el perfil de pigmentos mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), se analizó el contenido de cera mediante cromatografía de gases-masas (GC-MS) y la generación de cera en la planta se observó mensualmente.

Los resultados mostraron que la cera de *E. laui* se produjo solamente en hojas nuevas de la planta y al retirarla de la superficie no se regeneró. Esta cera está compuesta principalmente de triterpenos y se identificó a la 12-oleanona-3-yl-acetato como el más abundante (64.98%).

La presencia de cera en las hojas de *E. laui* no tuvo influencia en la acumulación de ácidos orgánicos y dinámica estomática, pero sí favorece un buen acarreo en la cadena transportadora de electrones, en plantas que estuvieron en altas irradiaciones lumínicas y altas temperaturas. Al remover la cera de la superficie de la hoja, se inhibió el acarreo principalmente en la reducción de Q_A^- . Por lo cual, se discute que la cera que cubre las hojas de *E. laui* es una de las diversas estrategias que posee la planta para evitar el daño al aparato fotosintético.

ABSTRACT.

Plant wax confers protection against ultraviolet radiation and pathogens, likewise decreases both non-stomatal water loss and dust deposition. Plants having Crassulacean Acid Metabolism (CAM), like *Echeveria laui*, have this feature. Crassulaceae family members are characterized by their large amount of leaf wax, which help them to survive under extreme temperature-, water deficit and high light intensities conditions.

To determine the plant wax role on the photosynthesis, chlorophyll a fluorescence, stomatal dynamic and organic acid accumulation was evaluated in *E. laui*. Chlorophyll a fluorescence was evaluated in a crassulacean population grown under field conditions during 12 months only. The rest of variables were analyzed in plants growing under three different environments. Likewise, pigments profile and content of plant-epicuticular wax was analyzed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS), respectively. Additionally generation of wax in *E laui* plants was recorded every month. .

Our results showed that wax occurred only on new leaves and was not regenerated after this was removed. Wax was composed mainly by triterpenes and 12-Oleanen-3-yl acetate was identify as the most abundant component (64.98%).

Wax on the leaves of *E. laui* did not influence the organic acids accumulation and stomatal dynamics. However, it allows an optimal electronic transport under high light irradiation- and high temperatures conditions. When plant wax was removed, electronic transport was blocked at Q_A^- . In conclusion, wax of *E. laui* leaves is one of the strategies that allows to protect its photosynthetic apparatus.

INTRODUCCIÓN.

La energía solar es absorbida mediante la fotosíntesis gracias a los pigmentos fotosintéticos que, en el caso de las plantas, son las clorofilas a, b y los carotenoides. Estos pigmentos están asociados a proteínas constituyendo unidades funcionales denominados fotosistemas (fotosistema I y II). En cada fotosistema podemos encontrar un centro de reacción y un complejo antena. Mientras que las antenas absorben y transfieren la energía de excitación procedente de la luz (hay transferencia de energía pero no de electrones), en el centro de reacción se transfieren electrones, dando lugar a la transformación de la energía luminosa en energía química (Clayton, 1965).

La luz puede producir daños en el aparato fotosintético, a pesar de ser la fuerza motriz de la fotosíntesis, la cual resulta imprescindible para el crecimiento autótrofo de los organismos fotosintéticos (Anderson y Aro, 2001). La cantidad y calidad de luz pueden producir desequilibrios en la energía de excitación de los dos fotosistemas, disminuyendo la eficiencia de la fotosíntesis, así como los cambios en la temperatura o disponibilidad de CO₂ alteran el estado redox de los componentes de la cadena de transporte electrónico fotosintético (Alfonso *et al.*, 2000).

Existen mecanismos bioquímicos para concentrar el CO₂ en las plantas (Taíz y Zeiger, 2002) entre ellos el Metabolismo Ácido de las Crásulaceas (MAC), el cual se caracteriza por fijar CO₂ atmosférico en la noche y por mantener los estomas cerrados durante el día (Gibson y Nobel, 1986; Vázquez-Yanes, 1997; Pimienta-Barrios *et al.* 1998; Dodd *et al.* 2002). El ácido málico sintetizado se acumula en la vacuola de donde sale al día siguiente para ser descarboxilado, el CO₂ obtenido de esta reacción se utiliza en la síntesis de carbohidratos con la energía obtenida de la fase luminosa de la fotosíntesis (Medina, 1977).

Los individuos con el metabolismo MAC pueden crecer en sitios donde la disponibilidad de agua o CO₂ es escasa (Andrade *et al.* 2007; Taiz y Zeiger, 2002; Larcher, 2003), ya que poseen características fisiológicas y morfológicas que les permiten sobrevivir y crecer en condiciones de déficit hídrico (Silva *et al.* 2001). Estas plantas se caracterizan por tener un clorénquima empaquetado con gran cantidad de vacuolas donde se acumula el ácido málico, presentan una fracción de aire intercelular del 8% por volumen y el tejido dominante frecuentemente es parénquima almacenador de agua (Nobel y Hartsock, 1990), carecen de peridermis por un período largo; presentan un gran desarrollo de la cutícula para maximizar la resistencia a perder

agua (Gibson, 1982), y su superficie se caracteriza por la disposición de grandes cantidades de cera (Silva *et al.*, 2001) que contribuyen a aumentar los valores de resistencia estomática y cuticular a la pérdida de agua (entre 600 y 1000 seg cm⁻¹) de acuerdo a Ting y Szarek (1975).

Las ceras cuticulares de la hoja cubren esencialmente la superficie aérea de la planta y forman una barrera protectora entre la planta y su ambiente (Jenks y Ashworth, 1999), las plantas que experimentan de manera natural altos niveles de UV-B desarrollan hojas glaucas o pubescentes, lo que sugiere que dichas estructuras pueden ser ventajosas en esos ambientes (Karabourniotis *et al.*, 1993; Barnes *et al.*, 1994). Muchas plantas muestran una marcada resistencia a la desecación durante la sequía, esto es parcialmente atribuible a la reducción en la pérdida de agua por transpiración cuticular a través de la cera que cubre las hojas (Leyton, 1963). La capacidad protectora de las ceras cuticulares está basada en su capacidad para moderar las longitudes de onda de luz que penetran en los tejidos (Robberecht *et al.*, 1980; Vogelmann, 1993), ya que las ceras pueden atenuar significativamente de manera directa la luz UV (Barnes y Cardoso-Vilhena, 1996) específicamente la radiación UV-B, protegiendo las partes más sensibles de las hojas como las células guarda o la cavidad subestomática (Day *et al.*, 1992).

El contenido de cera cuticular es un factor importante en el combate al estrés a través de la reducción de la pérdida cuticular de agua, cuando el estoma está cerrado (Hall y Jonex, 1961; Brown, 1995), con lo que se incrementa la conservación de agua durante los periodos de estrés hídrico (Brown, 1995).

La cera que cubre las hojas de las plantas confiere ciertas ventajas en ambientes adversos, por lo que es de particular interés conocer el papel que juega en las plantas que crecen en climas semiáridos, como *Echeveria laui*, una crasulácea que posee el metabolismo MAC y una cubierta abundante de cera sobre la superficie de sus hojas.

OBJETIVOS.

General

- Determinar el papel de la cera en la fotosíntesis, acumulación de ácidos orgánicos y dinámica estomática en individuos adultos de *Echeveria laui*.

Particulares.

- Determinar el papel de la cera en la fotosíntesis de individuos adultos de *Echeveria laui*, en una población ubicada en su sitio de origen, Quiotepec, Oaxaca.
- Determinar el papel de la cera en la fotosíntesis, acumulación de ácidos orgánicos y dinámica estomática de individuos adultos de *Echeveria laui* crecidos en un vivero, bajo condiciones ambientales semejantes al de su sitio de origen y en un invernadero en el Estado de México.

ANTECEDENTES.

Los estudios de ceras cuticulares en las angiospermas generalmente se han enfocado a sus atributos fisiológicos, ecológicos o a su composición química (Denton, 1994). Las plantas que experimentan altos niveles de UV-B desarrollan hojas glaucas o pubescentes (Karabourniotis *et al.*, 1993; Barnes *et al.*, 1994), al igual que las especies nativas expuestas a ambientes áridos, muestran varios mecanismos para reducir la absorción de la radiación incluyendo cubiertas epidérmicas reflectoras tales como secreciones salinas, pubescencia y ceras (Gates *et al.*, 1965; Mooney *et al.*, 1977; Ehleringer, 1981; Robinson *et al.*, 1993).

Estas ceras cuticulares juegan un papel importante en la resistencia de la planta al estrés tanto biótico, como los ocasionados por hongos patógenos, insectos fitófagos (Jenks y Ashworth, 1999), como abiótico, en la reducción en el depósito de polvo, polen, contaminantes ambientales, protección contra la radiación ultravioleta (Kunst y Samuels, 2003) y la sequía (Jenks *et al.*, 1999; Goodwin *et al.*, 2005).

La habilidad para alterar la cera cuticular provee a las plantas de un mecanismo mediante el cual pueden limitar la transpiración, ayudando a la retención de agua, así como reducir la carga de radiación en la superficie de la hoja y mantener un crecimiento vigoroso en ambientes limitados de agua (Robberecht *et al.*, 1980; Sánchez *et al.*, 2001; Jordan *et al.*, 1984; Goodwin *et al.*, 2005; Jefferson *et al.*, 1989; Premchandra *et al.*, 1992; O'toole *et al.*, 1979; Caldwell *et al.*, 1983; Ehleringer, 1984).

En pino, se observó que la antecámara estomática esta cubierta por cera, lo que tiene una función antitranspirante, lo que redujo la pérdida de agua pero tuvo un efecto negativo sobre la fotosíntesis (Jeffree *et al.*, 1971). En plantas como el ajonjolí, trigo, tomillo, algodón, rosa, chícharo, maní y tabaco, la sequía ocasiona un incremento en la cera (Kim *et al.*, 2007; Johnson *et al.* 1983, Uddin y Marshall, 1988; Letchamo y Gosselin, 1996; Bondada *et al.* 1996; Jenks *et al.*, 2001; Sánchez *et al.*, 2001; Samdur *et al.*, 2003; Cameron *et al.*, 2006).

El incremento en las cantidades de cera cuticular esta asociado con la tolerancia a sequía en avena (Bengston *et al.*, 1978), arroz (O'Toole *et al.*, 1979; O'Toole y Cruz, 1983), sorgo (Jordan *et al.*, 1983) y alfalfa transgénica (Zhang *et al.*, 2005). Sin embargo, el mecanismo exacto de la inducción de la cera como respuesta a la falta de agua, la reducción de la transpiración y como altera la tolerancia a la sequía, permanece desconocido (Jordan *et al.*, 1984; Premachandra *et al.*, 1992; Cameron *et al.*, 2006). Existen estudios donde la cera de la uva previene la pérdida de agua (Chambers *et al.*, 1963), evita la herbivoría en col (Eigenbrode *et al.*, 1998) y si la cera disminuye en sorgo, aumenta la transpiración cuticular (Jordan *et al.*, 1984).

Los miembros de la familia Crassulaceae tienen una capa de cera cuticular bien desarrollada (Stevens *et al.*, 1994). La cera de hojas de especies suculentas han sido caracterizadas en cuanto a la composición isotópica de carbono e hidrógeno (Feakins y Sessions, 2010), se han analizado 12 taxa de *Sedum* (Denton, 1994), determinado los alcanos de la cera de *Sedum lanceolatum* (Bowman, 1983) y recientemente van Maarseveen y colaboradores (2009), monitorearon en *Kalanchoe daigremontiana* la acumulación de cera cuticular durante el desarrollo de las hojas y se dividió entre cera cuticular e intracuticular.

En *Kalanchoe blosfeldiana*, *K. pumila* y *K. tomentosa* se evaluó la contribución relativa de las ceras cuticulares a la reflectancia de la radiación y la utilidad de la radiación fotosintética, encontrando que la reflectancia disminuye al retirar la cera (Holmes y Keiller, 2002). Durante la ontogenia de la hoja de *Cotyledon orbiculata* se analizaron los cambios en la capacidad fotosintética, la eficiencia del fotosistema II (FSII), el rango de disipación de energía, contenido de clorofila, carotenoides, antocianinas, y acumulación de cera bajo diferentes intensidades lumínicas (Barker *et al.*, 1997). De acuerdo a Holmes y Keiller (2002), la protección UV no es la función fundamental de la cera de las hojas, se conoce muy poco sobre la absorbancia relativa de las ceras comparada con los pigmentos pantalla en orden de establecer una importancia relativa de las ceras.

La especie que concierne a este trabajo es *Echeveria laui*, una planta con metabolismo MAC (Reyero, 2009), está cubierta de cera abundante (González, 2007), su forma de crecimiento es arrosada con hojas suculentas y raíces poco desarrolladas (Walther, 1972). *E. laui* es endémica

de la región de Cuicatlán donde el clima es semiárido (Reyes *et al.*, 2004), su población tipo es reducida (cerca de 300 individuos) (Pérez, 2007), y en el año 2007 se conocían sólo 3 poblaciones (Reyes, comunicación personal en Piña-Poujol *et al.* 2007). Los trabajos relacionados con esta especie se inclinan principalmente a su propagación por semilla, esqueje e *in vitro*, reproduciéndola con éxito (Piña, 2003; Verastegui, 2009, Wojciechowicz *et al.*, 2001). Durante la formación de brotes en esqueje de hoja, fueron analizados los patrones electroforéticos de proteínas identificándose 4 bandas asociadas con eventos morfogénicos (Sánchez, 2010). El tamaño inicial de las plántulas y el micrositio fue evaluado en ensayos de reintroducción determinando que el nodrizaje ayuda a la sobrevivencia (Piña-Poujol *et al.*, 2007). En plantas adultas, brotes (a partir de esqueje) y plántulas (a partir de semilla) fue analizada la dinámica estomática concluyendo que es una especie MAC facultativa y la cera fue cuantificada por cm^2 en plantas adultas encontrando 1.97 mg/cm^2 (Reyero, 2009).

METODOLOGÍA.

Este trabajo se realizó en una población silvestre de *Echeveria laui* en la localidad de Santiago Quiotepec (N= 17° 54' 32.4", W= 96° 58' 16.5", altura 1667 msnm) y con plantas donadas por el vivero "La Iberia" perteneciente a la Fundación para la Reserva de la Biosfera, Cuicatlán, A. C., localizado en la Iberia s/n, San Juan Bautista, Cuicatlán, Oaxaca (N= 17° 47' 54.2", W= 96° 58' 62.1"), con registro UMA: MX/VIV-CO-218-OAX/05. Este trabajo se realizó con el fin de explicar si la cera que cubre a esta crasulácea influye sobre el transporte electrónico durante la fase luminosa de la fotosíntesis, el metabolismo fotosintético MAC y el patrón de apertura estomática.

El trabajo de campo y experimental se realizó mensualmente durante el periodo de Mayo (2010)-Abril (2011).

Santiago Quiotepec.

Con el objetivo de registrar el comportamiento de la fotosíntesis de *E. laui* en su sitio de origen, se acudió a la población de Santiago Quiotepec, donde se eligió al azar 6 ejemplares de *E. laui* separados por una distancia de aproximadamente tres metros y a 3 de ellos se les retiró la cera mecánicamente con un pincel. A los seis individuos seleccionados se les cuantificó la fotosíntesis mediante la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila *a* en los horarios de las 12:00, 16:00 y 18:00 horas, una vez al mes durante 12 meses. Al mismo tiempo se registró la irradiación lumínica (cuantómetro marca Hansatech modelo Quantum sensor/measuring unit), temperatura y humedad relativa (EXTECH ® INSTRUMENTS RHT10 Humidity/Temperature Datalogger).

Vivero "La Iberia".

Con el objetivo de determinar el papel de la cera en *E. laui* bajo condiciones ambientales similares a las de su sitio de origen, se seleccionaron plantas adultas del vivero "La Iberia", cuyo diámetro estuviera entre los 10-15 cm y posteriormente se agruparon en tres condiciones ambientales.

La primer condición ambiental se le nombró Vivero Intensidad Baja (VIB) y se ubicó dentro del vivero con malla de sombra (área destinada a la reproducción de la crasulácea. La segunda

condición ambiental se llamó Vivero Intensidad Alta (VIA) y se colocó en el mismo vivero donde no había malla de sombra, por lo tanto la irradiación luminosa fue mayor. Entre VIB y VIA la irradiación luminosa fue diferente, pero la temperatura y humedad relativa fueron semejantes. Con el fin de modificar la temperatura y humedad relativa pero manteniendo elevadas irradiaciones lumínicas, la tercer condición ambiental fue la de Invernadero (INV). En la condición INV se trasladó un lote de 18 plantas al Estado de México, a un invernadero en la Unidad de Morfología y Función de la UNAM Fes-Iztacala.

En cada condición ambiental (VIB, VIA, INV) se colocaron dos tratamientos (9 plantas por tratamiento), las plantas control (con cera) y las plantas experimentales a las que se les retiró la cera mecánicamente con un pincel (sin cera). La temperatura y humedad relativa se midió con el equipo referido anteriormente.

En cada condición se cuantificó la fotosíntesis de la cinética de la emisión de la fluorescencia de la clorofila *a*, el metabolismo MAC mediante la acumulación de ácidos orgánicos y la dinámica estomática. Adicionalmente se registró la temperatura de la planta, se cuantificó la cantidad de clorofila, se compararon los perfiles de pigmentos, se analizó la cera y se evaluó la generación de la misma en las hojas de la crasulácea.

Cuantificación de la fotosíntesis mediante la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila a.

La cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila *a* del FSII se registró con un analizador de eficiencia para plantas (POCKET PEA, marca Hansatech). Las determinaciones fueron realizadas en una hoja de la parte basal de la roseta y en 4 horarios (08:00, 12:00, 16:00 y 20:00).

La emisión de la fluorescencia de la clorofila *a* se realizó colocando en las hojas de la parte basal las pinzas suministradas con el equipo y se colocó la hoja en oscuridad por un período de 10 minutos. Posteriormente se aplicó un destello luminoso con una densidad de flujo fotónico de $3000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ durante 10 segundos.

Los valores de la fluorescencia se obtuvieron por triplicado y se promediaron con el programa Handy PEA Software versión 1.30 14/05/02 de Hansatech Instruments Ltc., se transfirieron para su análisis al programa Biolyzer © 1999-2001 de Ronald M. Rodríguez, Biolyzer 4HP version.4.0.30.03.02 y se obtuvieron los parámetros del análisis OJIP (cuadro 1, González *et al.*,

2008). El análisis OJIP se realizó acorde a la teoría de flujo de energía en biomembranas, el cual cuantifica el rendimiento del FSII en condiciones normales y ante algún tipo de estrés (Strasser, 1985). Al finalizar el experimento se compararon los comportamientos de cada condición ambiental por mes y se agruparon los que fueron similares para el análisis y la discusión.

Cuadro 1. Significado de los parámetros que fueron obtenidos en el análisis OJIP.

PARÁMETRO	SIGNIFICADO
F _o	Fluorescencia mínima, denota la cantidad de energía atrapada por los pigmentos antena cuando los centros de reacción permanecen abiertos.
F _m	Fluorescencia máxima, indica la cantidad de centros de reacción cerrados por la actividad fotoquímica.
ABS/CSo	Flujo absorbido (flujo de fotones absorbidos por pigmentos antena).
TRo/CSo	Flujo atrapado (flujo de energía transferida al centro de reacción que será convertida en energía redox reduciendo Q _A a Q _A ⁻).
ETo/CSo	Flujo de transporte electrónico (al oxidarse Q _A ⁻ se inicia el transporte de electrones que conduce a la fijación de CO ₂).
DI/CSo	flujo de disipación de energía no atrapada como calor o transferencia a otros sistemas no fluorescentes.
φ _{Po}	Eficiencia cuántica máxima de la reacción fotoquímica primaria.
ψ _o	Eficiencia con la que un excitón atrapado puede mover un electrón más allá de Q _A ⁻ en la cadena transportadora de electrones.
φ _{Eo}	Probabilidad de que un fotón absorbido mueva un electrón en la cadena transportadora de electrones.
PI _(abs)	Índice de rendimiento. Combina el número de centros de reacción de apertura muy lenta o centros de reacción que no unen a Q _B
N	Número de veces que Q _A se reduce desde el tiempo 0 al tiempo en que se alcanza la F _{max} .

La curva OJIP hace referencia a la cadena de eventos que se dan en la cadena de transporte de electrones (esquema Z de la fotosíntesis). El cual consiste en el acarreo de electrones desde el centro de reacción P680 del fotosistema II, posteriormente el electrón pasa al siguiente transportador la feofitina (Feo) que es como una clorofila pero sin magnesio en el anillo tetrapirrol. El siguiente aceptor es una plastoquinona fija (Q_A) y el último aceptor es otra quinona móvil (Q_B); cuando esta se reduce, se intercambia por la otra del conjunto (pool) de plastoquinonas (PQ) libres que nadan en la membrana tilacoidal. El electrón continúa por la cadena transportadora a través del citb_{6f}, (complejo intermedio entre los dos fotosistemas) para continuar su camino hasta la plastocianina (PC). Después ocurre otra separación de cargas en el centro de reacción P700 del fotosistema I quedando este último oxidado, por lo tanto oxida a la plastocianina (cede un electrón a P700), la ferredoxina se reduce tomando el electrón y este llega a su último aceptor el NADP⁺ (Azcón-Bieto y Talón, 2008) (fig. 1 A)

En el análisis de la fluorescencia, cuando una muestra preacondicionada a la oscuridad es iluminada, la fluorescencia de la clorofila *a* se incrementa rápidamente. Este incremento es un reflejo de la reducción “cierre” de los centros de reacción del fotosistema II y provee de la actividad fotoquímica del fotosistema II y la reducción “llenado” de la poza de quinona. La fluorescencia de la clorofila presenta cuatro inflexiones nombradas OJIP, como se muestra en la figura 1 B (González *et al.*, 2008):

- (1) O, es el valor mínimo de la fluorescencia (F_o), en ese momento todos los centros de reacción están oxidados “abiertos.
- (2) J, está relacionada con la reducción parcial de Q_A
- (3) I, está relacionada con la reducción parcial de Q_A y Q_B .
- (4) P, es el valor máximo de la fluorescencia (F_m), en este momento todos los centros de reacción están “cerrados”. Es el punto de fluorescencia máxima debido a que el flujo de electrones desde PQ a través del complejo b/f es el paso más lento de la cadena.

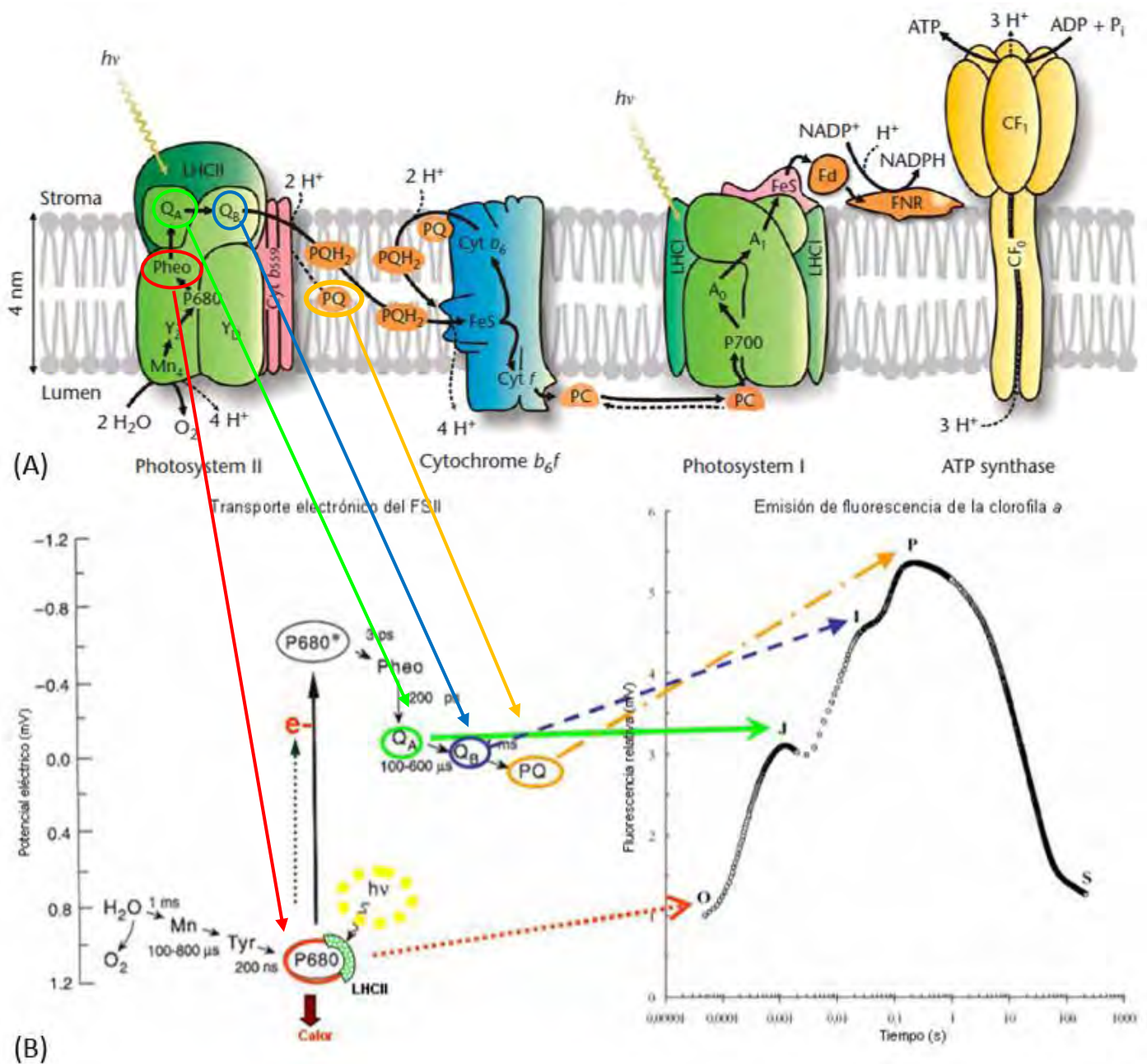


Figura 1. (A) Representación esquemática de los complejos proteínicos y cofactores involucrados en la cadena de transporte de electrones y transporte de protones en la fotosíntesis de plantas superiores (Govindjee *et al.*, 2010). (B). Relación entre los eventos del transporte electrónico y la emisión de fluorescencia de la clorofila a del FSII. Tyr-Tirosina, LHCII-complejo antena del FSII, P680-centro de reacción del FSII, Pheo-Feofitina, Q_A , Q_B —quinona a y b, PQ-plastoquinona, O, J, I y P-puntos de inflexión en escala logarítmica de tiempo de la emisión de fluorescencia. Las flechas indican la relación entre el evento fotoquímico y los puntos de inflexión (Segura, U. J., 2010).

Acumulación de ácidos orgánicos.

La acumulación de ácidos orgánicos se determinó en hojas de la parte basal de la roseta y en 6 horarios (00:00, 04:00, 08:00, 12:00, 16:00, 20:00).

Un gramo de tejido (tomado de la parte basal de la planta) se maceró con 4 ml de agua destilada (previamente hervida), se colocó en baño maría por 10 minutos y se aforó a 50 ml con agua destilada hervida. La muestra enfriada se tituló a pH 8.3 con NaOH 0.01N y el contenido de acidez se expresó en μeq de ácido/g de tejido fresco (Sheng-Shu y Clanton, 1983).

La prueba tuvo tres repeticiones por horario y los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo y un $\alpha= 0.05$.

Dinámica estomática.

La dinámica estomática se determinó en las hojas y horarios referidos en la prueba de acumulación de ácidos orgánicos.

La hoja se colocó en solución fijadora F. A. A. (Formaldehído 37% 100 ml, Alcohol etílico 96% 500 ml, Acido acético glacial 50 ml, Buffer de fosfatos 350 ml), (Tejero *et al.* 1998, Dhir *et al.*, 2001; Rahman y Wajid, 1998). Posteriormente se retiró la epidermis (abaxial y adaxial), se tiñó con una solución de cristal violeta alcohólica y se montó en gelatina glicerizada fenificada (Tejero *et al.* 1998). Con base a la densidad estomática de *E. laui* (4.16 estomas por mm^2 en el haz y 1.70 estomas por mm^2 en el envés) (Reyero, 2009), se contaron 16 estomas en el haz y 7 en el envés para cubrir un área de 3.6045 mm^2 aproximadamente. El conteo de estomas se realizó con un microscopio Nikon YS2-T.

La prueba tuvo tres repeticiones por tratamiento/horario y los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo y un $\alpha= 0.05$.

Temperatura de la hoja.

La temperatura de la hoja se midió en las hojas y horarios referidos en la prueba de acumulación de ácidos orgánicos. Utilizando un termómetro infrarrojo marca RADIOSHACK.

Cuantificación de Clorofilas.

La cuantificación de clorofilas se realizó en la parte basal de la roseta y en 4 horarios (08:00, 12:00, 16:00 y 20:00).

Un gramo de tejido se maceró con acetona fría al 80%, el macerado se centrifugó a 2700 rpm y el sobrenadante se leyó a una absorbancia de 645 nm y 663 nm (en todo momento los tubos se mantuvieron protegidos de la luz). La cantidad de clorofila (gr/l) se obtuvo mediante los cálculos de Arnon (1949):

$$Cl\ a = (0.0127) (\text{abs } 663) - (0.00269) (\text{abs } 645)$$

$$Cl\ b = (0.0229) (\text{abs } 645) - (0.00468) (\text{abs } 663)$$

La prueba tuvo tres repeticiones por tratamiento/horario y los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo y un $\alpha = 0.05$.

Perfil de pigmentos.

Transcurridos los 12 meses de experimentación (Abril 2011) se apreció una diferencia de coloración en las plantas de *E. laui*, las plantas colocadas en VIA presentaron una coloración rojiza en sus hojas por lo que se evaluó el perfil de pigmentos de cada condición ambiental mediante HPLC.

Trece gramos de hoja (tomadas de la parte basal de la roseta) se maceraron con 30 ml de HEAT (hexano, etanol, acetona, tolueno, 10:6:7:7). Posteriormente el macerado se colocó en un matraz ámbar aforado con 2 ml de hidróxido de potasio al 40%, la muestra se puso a 56°C por 20 minutos y se dejó enfriar. Una vez enfriado el matraz se añadió 30 ml de hexano, se aforó a 100 ml con sulfato de sodio al 10%, se agitó vigorosamente por 1 minuto y se dejó reposar por 20 minutos. Transcurrido este tiempo se tomaron 10 ml de la epifase y se evaporó a sequedad con aire comprimido. Después se añadieron 500 μ l de hexano y se inyectaron en el HPLC.

Las fases utilizadas fueron acetonitrilo:metanol:tris (0.1M pH 8) (72:8:3) y metanol:hexano (40:10), las muestras se dejaron correr durante 20 minutos. La marca de columna utilizada fue Alltech, modelo Allsphere ODS-1, longitud 250 mm x 4.6 mm y tamaño de partícula de 5 μ m.

Análisis de cera.

Para determinar la composición química de la cera de *E. laui* se colectó esta mecánicamente con un pincel y se colocó en un tubo de 1.5 ml para su posterior GC-MS. La cera (5 mg) se solubilizó en 500 µl de cloroformo, se tomaron 5 µl e inyectaron dejándose correr por 45 minutos.

El cromatógrafo de gases utilizado fue de marca Agilent Technologies modelo 6850, con una columna HP-5MS utilizando una columna capilar de 30 metros de largo X 250 µm de diámetro y 0.25 µm de película/polímero. El espectrómetro de masas fue de marca Agilent Technologies el modelo 5975C VLMSD, las condiciones de corrida fueron: temperatura inicial del horno 50°C/min durante 2 minutos, rampa de calentamiento de 40°C/min hasta 200°C (2 minutos). La segunda rampa de calentamiento fue 30°C/min hasta 320°C (30 minutos). La temperatura del inyector fue de 250°C, modo de inyección split con una presión inicial de 0.73 psi y una rampa de 0.58 psi/min. La segunda rampa fue de 0.09 psi/min hasta 5.8 psi (37 minutos). El gas acarreador fue helio de 99.995% a una velocidad de 25 cm/seg. La temperatura del cuadrupolo fue de 150°C, la fuente de ionización de 230°C con un rango de masas a m/z 35 a 800.

Generación de cera.

En pocas especies de crasuláceas se ha reportado que al retirarse la cera de las hojas, esta es re-sintetizada por la planta, sin embargo no existe información de cómo se genera la cera en la especie en estudio y tampoco se sabe si la planta es capaz de re-sintetizarla si se le es removida o cuánto tiempo lleva este proceso. Por lo que en cada condición ambiental se colocaron plantas de *E. laui* con cera (control) y sin cera (experimental). A estas plantas nunca se les hizo ninguna de las determinaciones antes descritas, solamente se enumeró las hojas, empezando en la parte apical en espiral hacia la parte basal con un marcador indeleble. Esto con la finalidad de identificar como fue la generación de cera en la planta. El experimento se realizó por triplicado y duró 4 meses.

RESULTADOS.

Las plantas a las cuales se les cuantificó la fotosíntesis mediante la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila *a*, en Santiago Quiotepec presentaron los siguientes resultados:

Santiago Quiotepec.

En el sitio de origen de *Echeveria laui* se trabajó durante los meses de Mayo, Junio, Julio, Agosto y Octubre del 2010 debido a que las lluvias obstaculizaron la llegada al mismo. Durante estos meses se recopilaron los parámetros ambientales de temperatura y humedad relativa (en el día de la medición), siendo el mes de Mayo el que presentó las temperaturas más elevadas y una menor humedad relativa ambiental (fig. 2 y 3).

Las temperaturas del lugar de origen de *E. laui*, se graficaron con base a tres horas.

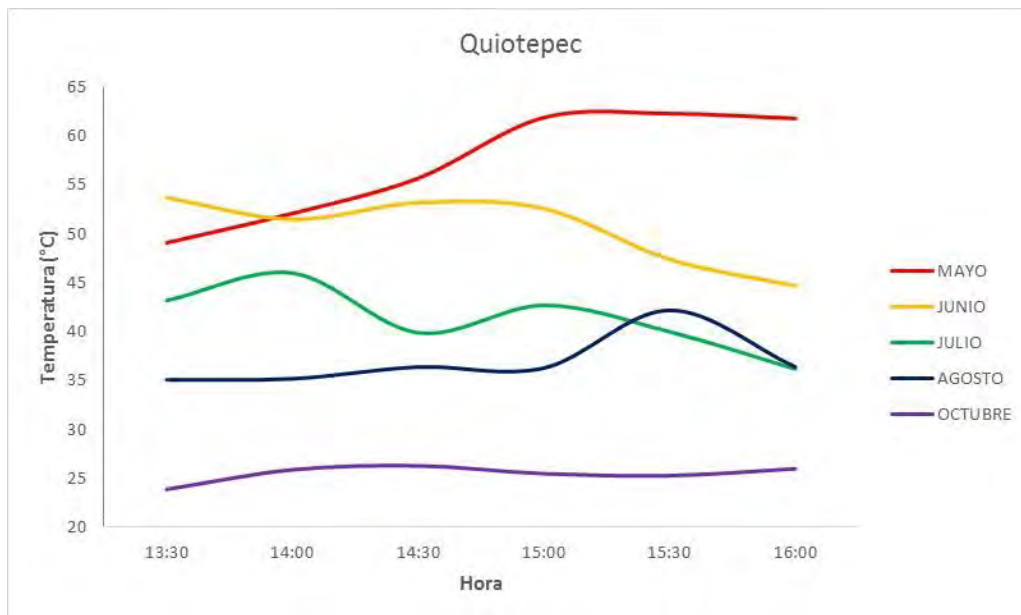


Figura 2. Temperatura Quiotepec. Año 2010.

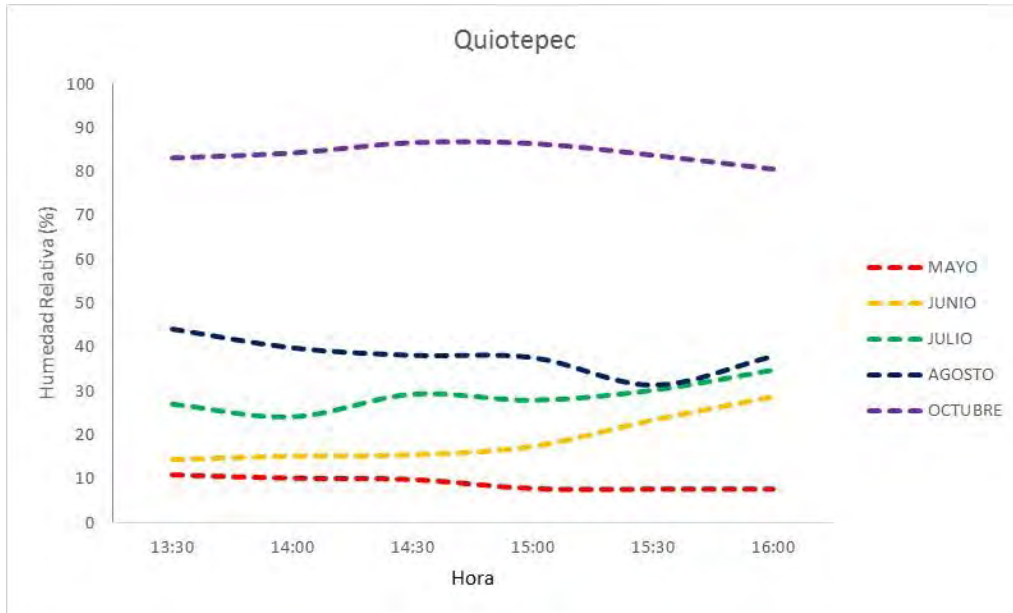


Figura 3. Humedad Relativa Quiotepec. Año 2010.

A medida que transcurrieron los meses, la temporada de calor terminó y comenzó la temporada de lluvias. Esto promovió un descenso en la temperatura y un aumento en la humedad relativa.

Las mediciones de la cinética de la emisión de la fluorescencia de la clorofila *a* se realizaron en Santiago Quiotepec solo los meses de Mayo, Junio, Julio, Agosto y Octubre de 2010, debido a que las lluvias obstaculizaron la llegada a este sitio. Cuando se tuvo acceso en el mes de Noviembre, varios individuos que formaban parte de los muestreos y diversos ejemplares que formaron parte de una campaña de reforestación en el mes de Julio (fig. 4).



Figura 4. Individuos de *Echeveria laui* muertos en Quiotepec. Noviembre de 2010.

La curva OJIP obtenida para el mes de Mayo, en ambos tratamientos no presentó con claridad las fases J, I y P, solo se obtuvieron los parámetros para 18:00 hrs debido a que con el equipo referido no se obtuvieron registros a otra hora (fig. 5).

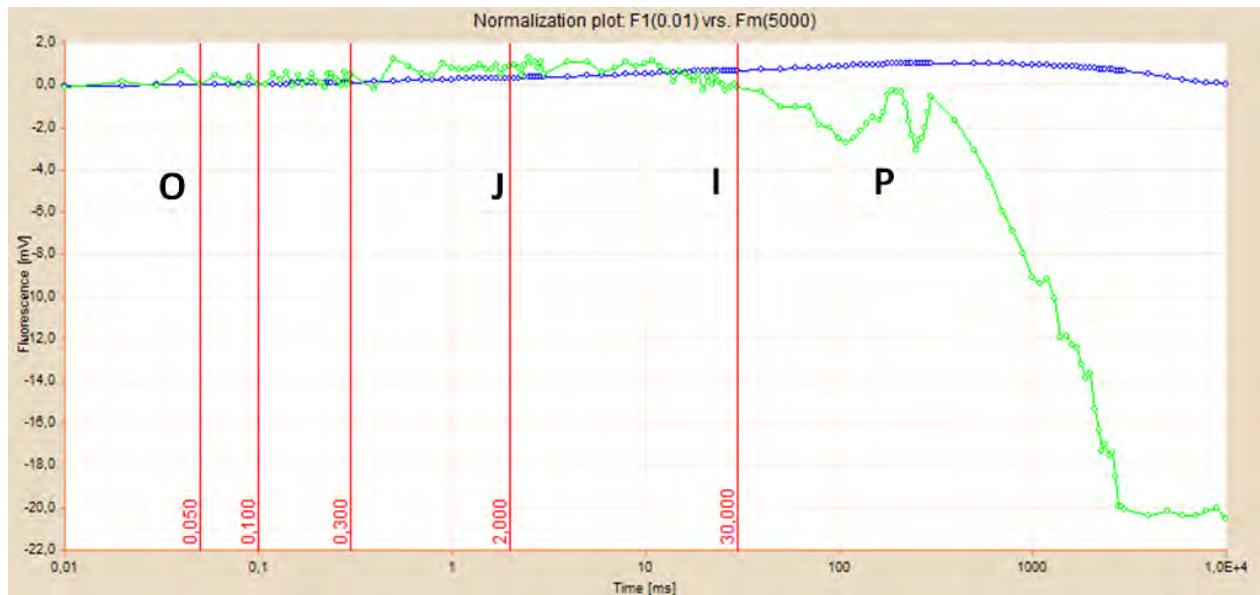


Figura 5. Análisis OJIP. Cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila a del FSII (normalizadas) en hojas de *Echeveria laui*. Curva azul planta con cera a las 18 hrs, curva verde planta sin cera a las 18 hrs. Mes: Mayo 2010. Sitio: Quiotepec.

En el modelo de flujo de hoja (fig. 6), en las plantas sin cera hubo mayor flujo absorbido por los complejos antena (ABS/CSo), pero este se disipó como calor (DI/CSo). No hubo flujo atrapado (TRo/CSo) ni transportado (ETo/CSo) y hubo una gran cantidad de centros de reacción apagados. En las plantas con cera los valores de ABS/CSo, TRo/CSo, ETo/CSo y DI/CSo fueron bajos y los centros de reacción estuvieron encendidos.

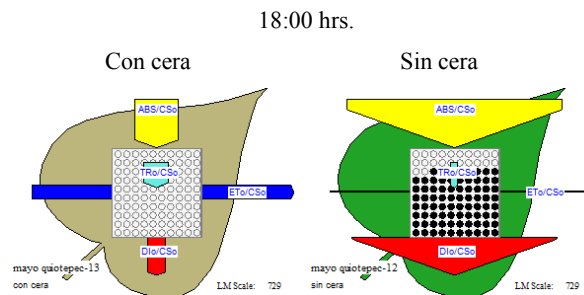


Figura 6. Modelos de hoja para el flujo de energía (absorción, captura de excitones, disipación y transporte de electrones) por sección transversal de hojas de *Echeveria laui*. El ancho de cada flecha corresponde a la intensidad del flujo de energía. Los puntos negros representan la cantidad de centros de reacción inactivos. Mes: Mayo 2010. Sitio: Quiotepec.

En los gráficos radiales (fig. 7) de los parámetros de la teoría de flujo de energía en biomembranas, en las plantas sin cera se apreció que toda la energía fue proyectada como fluorescencia (Fo, Fm) o disipada como calor (DI/CS_o). Los valores de la fotoquímica primaria (ϕ_{P_0}), la eficiencia con la que un excitón atrapado puede mover un electrón más allá de Q_A⁻ en la cadena transportadora de electrones (ψ_0), la probabilidad de que un fotón absorbido mueva un electrón en la cadena transportadora de electrones (ϕ_{E_0}) y el índice de funcionamiento (PI_{abs}) fueron prácticamente cero.

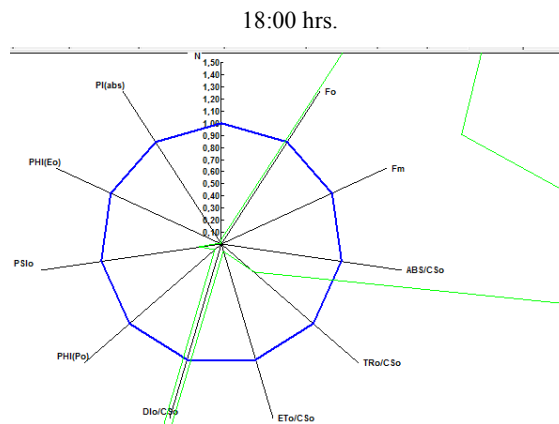


Figura 7. Gráficas radiales muestran todos los parámetros calculados. Las plantas con cera se graficaron al centro en color azul, mientras que las plantas sin cera se graficaron en color verde. Parámetros graficados: Fo, Fm, ABS/CS_o, TRo/CS_o, ETo/CS_o, DI/CS_o, ϕ_{P_0} (PHIP_o), ψ_0 (PSI_o), ϕ_{E_0} (PHIE_o), PI_{abs}, N. Mes: Mayo 2010. Sitio: Quiotepec.

En el mes de Mayo se registraron condiciones desfavorables para la planta, tales como temperaturas por encima de los 60°C (fig. 2), humedad relativa inferior al 10% (fig. 3). Las intensidades de luz fueron de 45.3 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ para la planta con cera y 180 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ para la planta sin cera. Ambas se encontraban bajo nodriza, lo cual amortiguó la intensidad luminosa.

En Julio, el análisis OJIP (fig. 8) mostró en las planta sin cera las fases J, I y P, en las plantas con cera no se distinguieron estas fases. Los parámetros se obtuvieron solo de las 12:00 hrs ya que el POCKET PEA no pudo registrar la medición en otra hora.

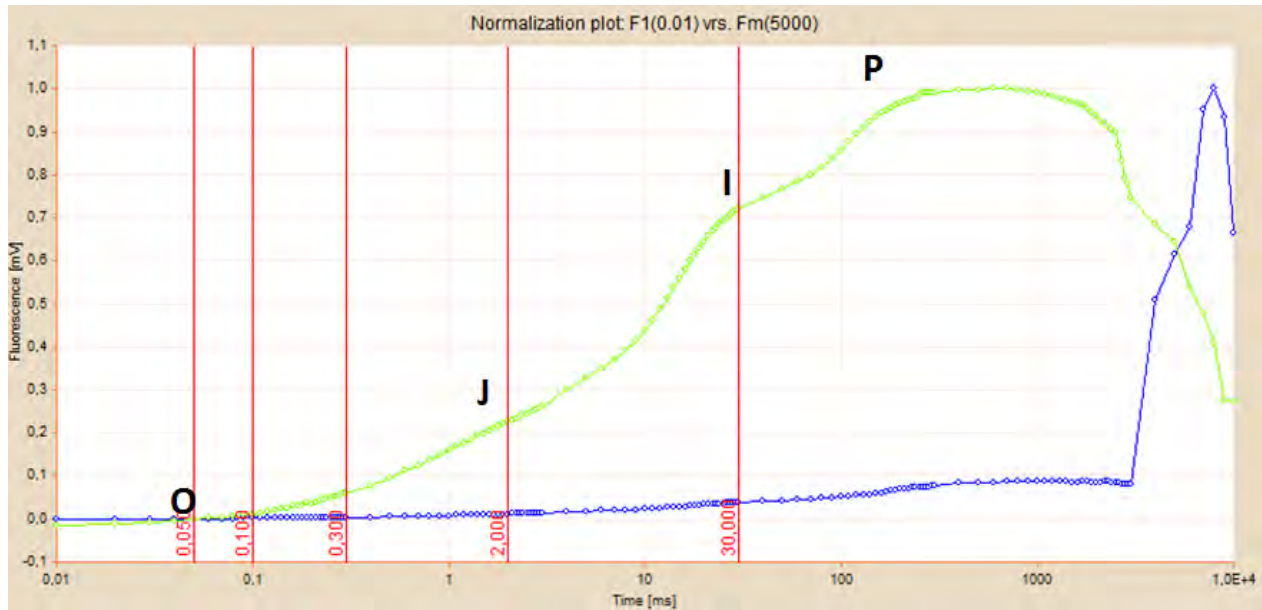


Figura 8. Análisis OJIP. Cinéticas de emisión de fluorescencia de la clorofila a del FSII (normalizadas) en hojas de *Echeveria laui*, curva azul planta con cera a las 12 hrs, curva verde planta sin cera a las 18 hrs. Mes: Julio 2010. Sitio: Quiotepec.

En el modelo de flujo de hoja (fig. 9) la planta con cera tuvo varios centros de reacción apagados, los valores de ABS/CS_o, TRo/CS_o y ETo/CS_o fueron menores y la energía no se perdió como calor (DI/CS_o). En la planta sin cera los centros de reacción estuvieron encendidos, hubo mayor ABS/CS_o, TRo/CS_o y ETo/CS_o y hubo pérdida de energía en forma de calor (DI/CS_o).

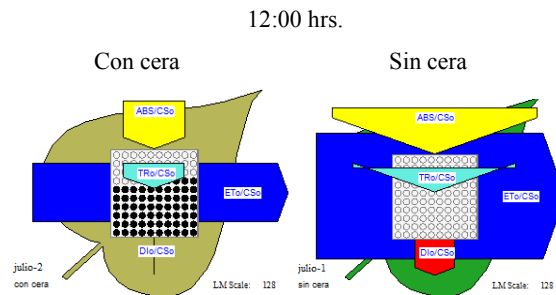


Figura 9. Modelos de hoja para el flujo de energía (absorción, captura de excitones, disipación y transporte de electrones) por sección transversal de hojas de *Echeveria laui*. El ancho de cada flecha corresponde a la intensidad del flujo de energía. Los puntos negros representan la cantidad de centros de reacción inactivos. Mes: Julio 2010. Sitio: Quiotepec.

Los parámetros de la teoría de flujo de energía en biomembranas mostraron en las plantas sin cera que los valores de la fotoquímica primaria (ϕ_{Po}), la eficiencia con la que un excitón atrapado puede mover un electrón más allá de Q_A^- en la cadena transportadora de electrones (ψ_o), la probabilidad de que un fotón absorbido mueva un electrón en la cadena transportadora de electrones (ϕ_{Eo}) fueron menores en comparación con las plantas con cera y el índice de funcionamiento (PI_{abs}) fue cercano a cero (fig. 10).

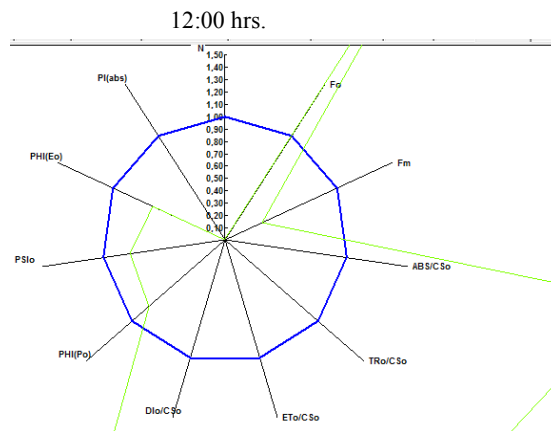


Figura 10. Gráficas radiales muestran todos los parámetros calculados. Las plantas con cera se graficaron al centro en color azul, mientras que las plantas sin cera se graficaron en color verde. Parámetros graficados: Fo, Fm, ABS/CSO, TRo/CSO, ETo/CSO, DI/CSO, ϕ_{Po} (PHIPo), ψ_o (PSIo), ϕ_{Eo} (PHIEo), PI_{abs} , N. Mes: Julio 2010. Sitio: Quiotepec.

En Julio empezaron a cambiar las condiciones ambientales, las temperaturas comenzaron a descender (fig. 2), se incrementó la humedad relativa (fig. 3), permitiendo a la planta realizar el acarreo de electrones en la cadena transportadora. Los valores de irradiación luminosa para la planta con cera y sin cera fueron $80 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $65.2 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ respectivamente.

Por último, en el mes de Agosto (fig. 11), en las plantas sin cera hubo estimulación en las fases J (reducción parcial de Q_A) y en la fase I (reducción parcial de Q_A^- y Q_B). Entre ambas plantas la fase P (reducción de la plastoquinona) tuvo valores similares. Solo se obtuvieron los parámetros de las 15:00 hrs ya que solo en este horario el POCKET PEA pudo registrar la medición.

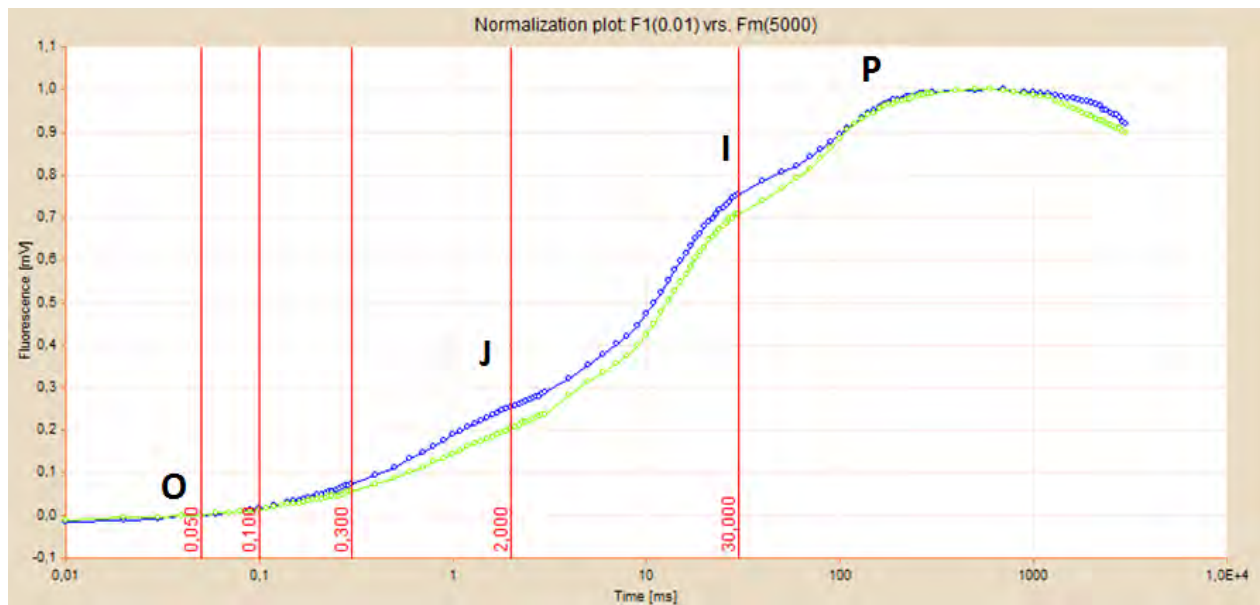


Figura 11. Análisis OJIP. Cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila a del FSII (normalizadas) en hojas de *Echeveria laui*. Curva azul planta con cera a las 15 hrs, curva verde planta sin cera a las 16 hrs. Mes: Agosto 2010. Sitio: Quiotepec.

En el modelo de flujo de hoja (fig. 12), en las plantas con cera hubo mayores valores de ABS/CS_o, TR_o/CS_o, y ET_o/CS_o y todos los centros de reacción estuvieron encendidos. Sin embargo, en ambos tratamientos se mejoró el transporte pero en las plantas sin cera hubo centros de reacción apagados.

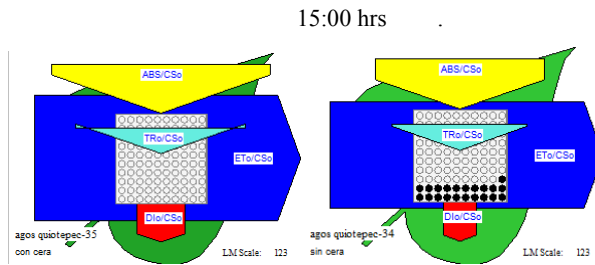


Figura 12. Modelos de hoja para el flujo de energía (absorción, captura de excitones, disipación y transporte de electrones) por sección transversal de hojas de *Echeveria laui*. El ancho de cada flecha corresponde a la intensidad del flujo de energía. Los puntos negros representan la cantidad de centros de reacción inactivos. Mes: Agosto 2010. Sitio: Quiotepec.

En los gráficos radiales (fig. 13) de los parámetros de la teoría de flujo de energía en biomembranas, en las plantas sin cera fueron mayores los valores de la fotoquímica primaria (ϕ_{P_0}), la eficiencia con la que un excitón atrapado puede mover un electrón más allá de Q_A^- en la cadena transportadora de electrones (ψ_0), la probabilidad de que un fotón absorbido mueva un electrón en la cadena transportadora de electrones (ϕ_{E_0}) y el índice de funcionamiento (PI_{abs}).

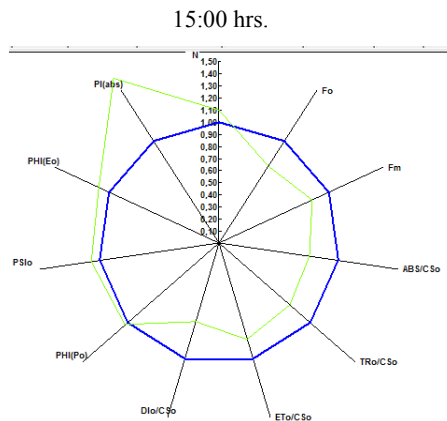


Figura 13. Gráficas radiales muestran todos los parámetros calculados. Las plantas con cera se graficaron al centro en color azul, (15:00 hrs.) mientras que las plantas sin cera se graficaron en color verde (16:00hrs.). Parámetros graficados: Fo, Fm, ABS/CSO, TRo/CSO, ETo/CSO, DIo/CSO, ϕ_{P_0} (PHIPo), ψ_0 (PSIo), ϕ_{E_0} (PHIEo), PI_{abs} , N. Mes: Agosto 2010. Sitio: Quiotepec.

En el mes de Agosto hubo elevada humedad relativa y descenso de la temperatura. Los valores para irradiación luminosa fueron de $16 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ para la planta con cera y $34 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ para la planta sin cera.

Resumiendo los comportamientos observados en el análisis OJIP mediante la fluorescencia de la clorofila *a*, en las plantas sin cera se obtuvo un buen acarreo de electrones en la cadena transportadora, en los meses de temperatura baja y humedad relativa alta (cuadro 2). En el mes de Agosto, se apreció este comportamiento, el cual favorece un buen índice de rendimiento (PI_{abs}).

Cuadro 2. Resumen de los análisis OJIP para el sitio Quiotepec. SC= Plantas Sin Cera. CC= Plantas Con Cera. La zona sombreada indica que los parámetros Φ_{Po} , Ψ_O , Φ_{Eo} y $PI_{(abs)}$ fueron mejores en las plantas SC. Año 2010.

MES	TEMPERATURA	HUMEDAD	LUZ	FASE J	FASE I	FASE P	Φ_{Po}	Ψ_O	Φ_{Eo}	$PI_{(abs)}$
Mayo	Elevada	Baja	Baja por nodrizaje	No se presentan las fases en SC y CC			SC=0	SC=0	SC=0	SC=0
Julio	En descenso	En aumento	Baja por nodrizaje	Fases presentes en SC			SC<CC	SC<CC	SC<CC	SC=0
Agosto	Baja	Elevada	Baja por nodrizaje	Estimulada SC	Estimulada SC	Equivalente entre SC y CC	SC>CC	SC>CC	SC>CC	SC>CC

Los resultados obtenidos en las plantas de vivero se describieron conforme a la condición ambiental y la prueba realizada. Obteniéndose lo siguiente:

Vivero Intensidad Baja (VIB).

Durante un año se midió mensualmente la temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica (fig. 14). Dichos valores se promediaron (Mayo 2010-Abril 2011) para observar su comportamiento a lo largo de un año, de modo que podemos observar los meses con condiciones de elevada temperatura y baja humedad relativa y viceversa.

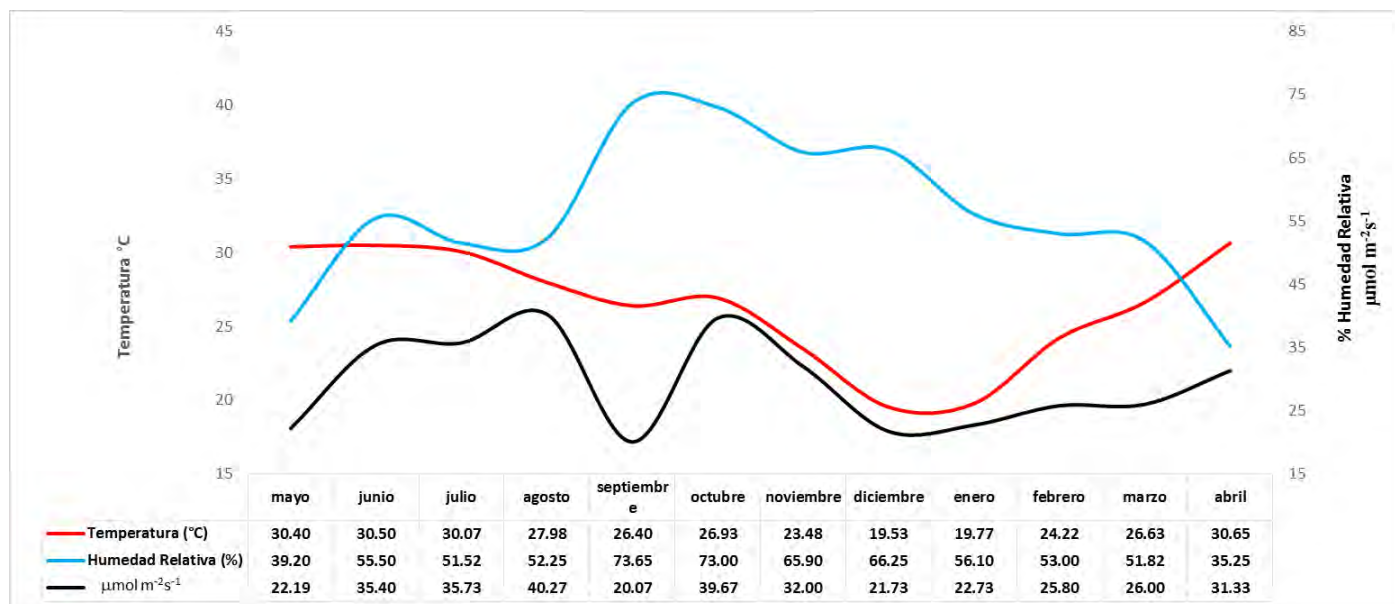


Figura 14. Temperatura, Humedad Relativa e Irradiación lumínica en el Vivero Intensidad Baja (VIB).
Período Mayo 2010-Abril 2011.

Cuantificación de la fotosíntesis mediante la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila a.

A continuación se presentan los resultados de la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila a, en base al análisis OJIP. Este análisis se hizo basándose principalmente en dos horarios, mañana (08:00 hrs) y tarde (20:00 hrs) ya que el POCKET PEA pudo registrar siempre las lecturas en esos horarios. Una vez analizados los datos, se agruparon los meses que presentaron comportamientos similares.

La curva OJIP obtenida por la fluorescencia de la clorofila *a*, para los meses de Mayo y Junio presentó en las plantas sin cera, una inhibición en la cadena de transporte de electrones en la fase J (reducción parcial de Q_A), fase I (reducción parcial de Q_A y Q_B^-) y fase P (reducción de plastoquinona) (fig. 15).

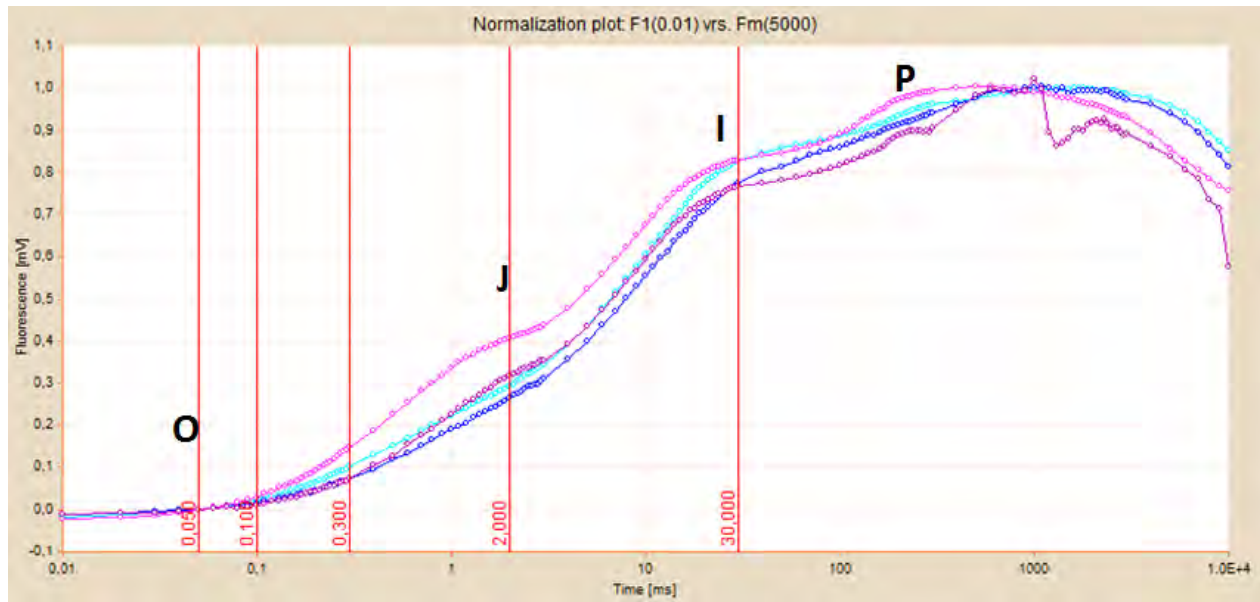


Figura 15. Análisis OJIP. Valores promedio de la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila *a* del FSII (normalizadas) en hojas de *Echeveria laui*. Curvas azules corresponden a horarios matutinos y rosas a horarios vespertinos. Plantas con cera representadas por colores oscuros y plantas sin cera representadas por colores claros. Meses: Mayo y Junio (2010).

Sitio: Vivero Intensidad Baja.

Al obtener los modelos de flujo de hoja (fig. 16) para los mismos meses, se observó una gran cantidad de centros de reacción apagados o reducidos que se abrieron conforme pasó el día. En plantas con cera el flujo absorbido (ABS/CS_o), flujo atrapado (TR_o/CS_o), y el flujo de transporte electrónico (ET_o/CS_o) fue mayor que en las plantas sin cera. Los centros de reacción estuvieron cerrados en la mañana, pero en las plantas con cera se abrieron al pasar el día. La disipación de energía como calor (DI/CS_o) fue mayor en la mañana en las plantas sin cera y en la tarde fue mayor en las plantas con cera, pero esto no afectó los otros parámetros.

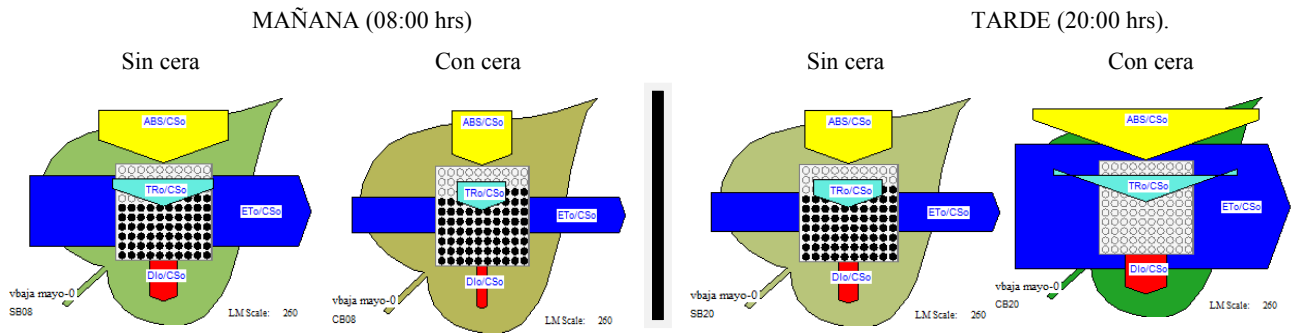


Figura 16. Modelos de hoja para el flujo de energía (absorción, captura de excitones, disipación y transporte de electrones) por sección transversal de hojas de *Echeveria laui*. El ancho de cada flecha corresponde a la intensidad del flujo de energía. Los puntos negros representan la cantidad de centros de reacción inactivos. Meses: Mayo y Junio (2010).

Sitio: Vivero Intensidad Baja.

Los parámetros de la teoría de flujo de energía en biomembranas (para los meses referidos) se representaron en gráficos radiales (fig. 17), el cual cuantifica el rendimiento del FSII en condiciones normales y ante algún tipo de estrés, obteniendo que a pesar de que en la mañana existen valores elevados en las plantas sin cera en parámetros como ABS/CS₀, TRO/CS₀ y ETO/CS₀, la eficiencia cuántica máxima de la reacción fotoquímica primaria (ϕ_{P_0}), la eficiencia con la que un excitón atrapado puede mover un electrón más allá de Q_A⁻ en la cadena transportadora de electrones (ψ_0), la probabilidad de que un fotón absorbido mueva un electrón en la cadena transportadora de electrones (ϕ_{E_0}) y el índice de funcionamiento (PI_{abs}) fue mejor en las plantas con cera, tanto en la mañana como en la tarde. En las plantas sin cera se observó que el aumento en la fluorescencia mínima (F₀), concuerda con las gráficas anteriores ya que, al no utilizarse la energía para la fotoquímica o dispersión de calor, la energía se manifestó como fluorescencia, sin embargo, en la tarde se ve que F₀ disminuyó su valor, al igual que el resto de los parámetros.

MAÑANA (08:00 hrs)

TARDE (20:00 hrs)

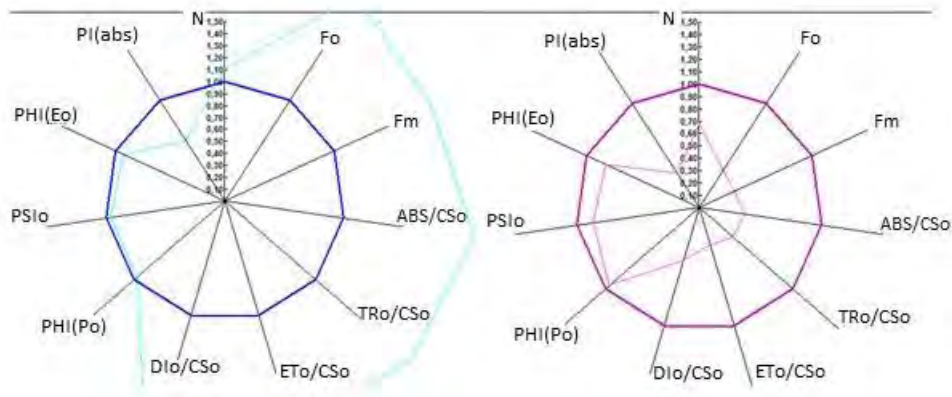


Figura 17. Gráficas radiales muestran todos los parámetros calculados. Las plantas con cera en colores oscuros, al centro y las plantas sin cera en colores claros. Parámetros graficados: Fo, Fm, ABS/CSo, TRo/CSo, ETo/CSo, DIo/CSo, ϕ_{Po} (PHIPo), ψ_o (PSIo), ϕ_{Eo} (PHIEo), PI_{abs} , N. Meses: Mayo y Junio (2010). Sitio: Vivero Intensidad Baja.

Este comportamiento se observó durante los meses en el que se presentó un incremento en la temperatura (Mayo y Junio), poca humedad relativa en el ambiente y bajas irradiaciones luminosas (cuadro 3), por lo que la cera ayuda a que un electrón llegue más allá de Q_A^- , (ψ_o).

Cuadro 3. Temperatura, humedad relativa e irradiación luminica. Año 2010. Sitio: Vivero Intensidad Baja.

HR	MAYO			JUNIO		
	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
00:00	26.7	51.2	0	25.4	95	0
04:00	22.3	64.2	0	22	97	0
08:00	21.9	68.5	4.74	22.9	99	4.6
12:00	34.8	36.7	33.04	40.9	19	49.6
16:00	44.6	15.8	28.8	45.2	14	52
20:00	32.1	35.8	0.1	26.6	90	0

La curva OJIP obtenida por la fluorescencia de la clorofila **a**, para los meses de Julio y Agosto presentó una inhibición en las plantas sin cera en la fase J, pero las fases I y P se estimularon, lo que sugiere un bloqueo en el acarreo de Q_A^- pero hubo transporte de electrones entre Q_B y la plastoquinona (figura 18).

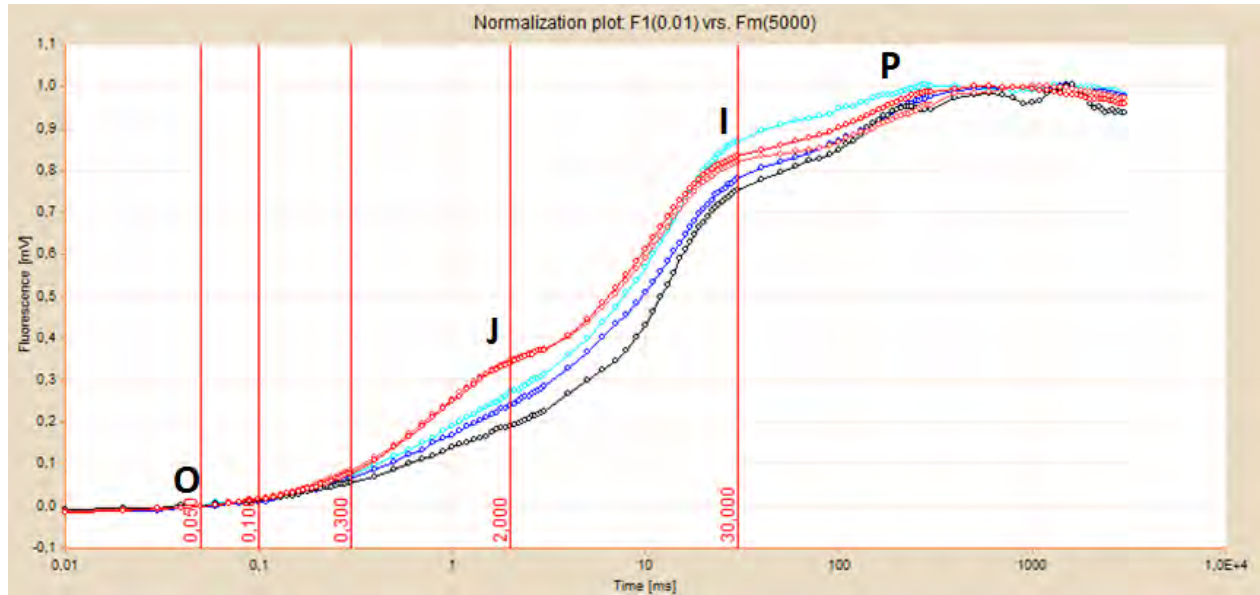


Figura 18. Análisis OJIP. Valores promedio de la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila **a** del FSII (normalizadas) en hojas de *Echeveria laui*. Plantas con cera representadas por colores oscuros y plantas sin cera representadas por colores claros. La curva negra representa la cinética de plantas con cera a las 16:00 hrs. Meses: Julio y Agosto (2010). Sitio: Vivero Intensidad Baja.

En los modelos de flujo de hoja (fig. 19), se observó que el flujo de transporte electrónico (ETo/CS_o) fue mejor en las plantas sin cera, lo que concordó con el análisis OJIP, ya que solo se presentó inhibición a nivel de reducción de Q_A , pero continuó el flujo de energía en los otros acarreadores. Sin embargo, también fue notable que la cantidad de energía que se disipó en forma de calor (DI/CS_o) fue mayor en las plantas sin cera.

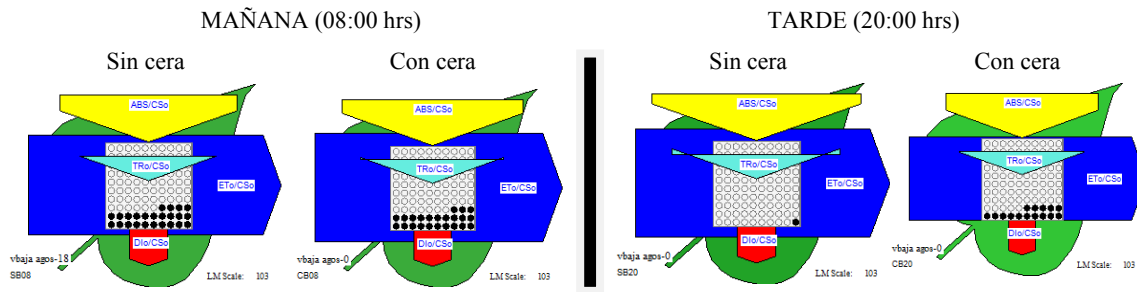


Figura 19. Modelos de hoja para el flujo de energía (absorción, captura de excitones, disipación y transporte de electrones) por sección transversal de hojas de *Echeveria laui*. El ancho de cada flecha corresponde a la intensidad del flujo de energía. Los puntos negros representan la cantidad de centros de reacción inactivos. Meses: Julio y Agosto (2010). Sitio: Vivero Intensidad Baja.

En las plantas sin cera los parámetros de ϕ_{Po} , ψ_o , ϕ_{Eo} , fueron ligeramente inferiores a los de las plantas con cera (fig. 20) y existió mayor liberación de energía como calor. El índice de funcionamiento (PI_{abs}) fue menor en las plantas sin cera, existió un aumento en la fluorescencia inicial (F_o) y en N (número de veces que Q_A se reduce desde el tiempo 0 al tiempo en que se alcanza la fluorescencia máxima).

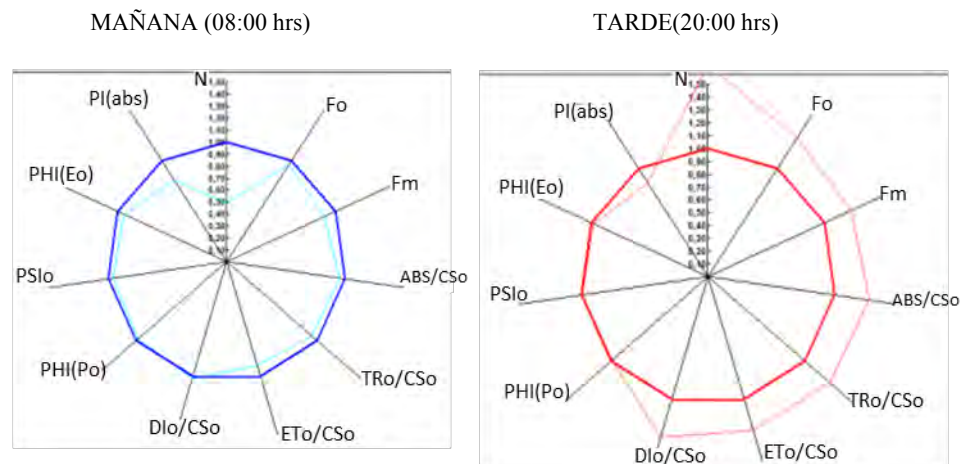


Figura 20. Gráficas radiales muestran todos los parámetros calculados. Las plantas con cera en colores oscuros, al centro y las plantas sin cera en colores claros. Parámetros graficados: F_o , F_m , ABS/CS_o , TR_o/CS_o , ET_o/CS_o , DI/CS_o , ϕ_{Po} ($PHIPo$), ψ_o ($PSIo$), ϕ_{Eo} ($PHIEo$), PI_{abs} , N . Meses: Julio y Agosto (2010). Sitio: Vivero Intensidad Baja.

En los meses de Julio y Agosto se observó una disminución (comparado con Mayo y Junio) en temperatura, mientras que la luz y la humedad relativa comenzaron a aumentar (cuadro 4).

Cuadro 4. Temperatura, humedad relativa e irradiación luminica. Año 2010. Sitio: Vivero Intensidad Baja.

HR	JULIO			AGOSTO		
	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
00:00	26.2	66.6	0	23.3	95	0
04:00	23.1	80	0	20.9	99	0
08:00	24.6	79.1	7.8	25.2	79	19.4
12:00	35.7	47.4	45.2	34.3	42	52.2
16:00	40.3	32	54.2	36.6	34	49.2
20:00	30.5	47.6	0	27.6	54	0

La curva OJIP obtenida por la fluorescencia de la clorofila *a*, para los meses de Octubre y Noviembre, mostró que las plantas sin cera tuvieron una estimulación en las fases J, I y P en la mañana. Conforme el paso del día hubo inhibición en las fases J e I, pero P se comportó igual que las plantas con cera. Al finalizar el día las tres fases fueron iguales a las de las plantas con cera (fig. 21).

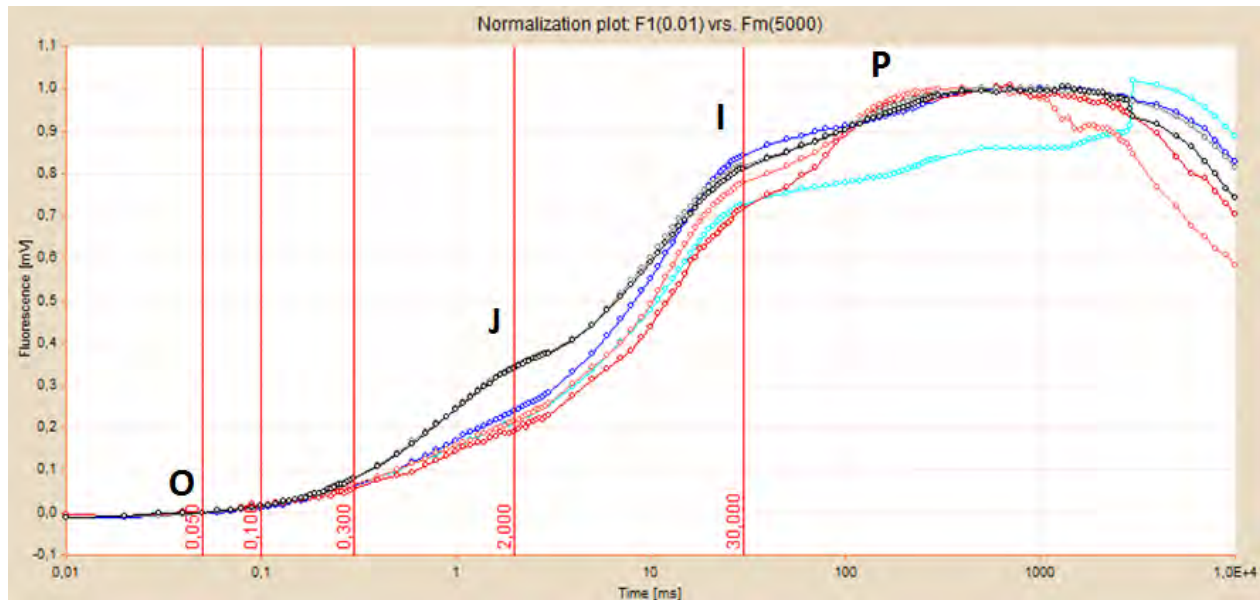


Figura 21. Análisis OJIP. Valores promedio de la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila *a* del FSII (normalizadas) en hojas de *Echeveria laui*. Curvas azules corresponden a las 08:00 hrs, curvas rojas a 16:00 hrs y curvas negras a las 20:00 hrs.

Plantas con ceras representadas por colores oscuros y plantas sin cera representadas por colores claros. Meses: Octubre y Noviembre (2010). Sitio: Vivero Intensidad Baja.

En los modelos de flujo de hoja (fig. 22), en la mañana se presentó un mejor flujo de transporte electrónico (ETo/CSO) en las plantas sin cera, aunque en ambos tratamientos hubo gran cantidad de centros de reacción apagados lo cual, mejoró para las plantas con cera en la tarde. Al encenderse los centros de reacción se aumentó el ETo/CSO, sin embargo, al final del día en ambos tratamientos hubo una reducción en ABS/CSO (flujo absorbido), TRo/CSO (flujo atrapado), ETo/CSO y el DI/CSO (flujo de disipación de energía no atrapada como calor) fue mayor en las plantas sin cera.

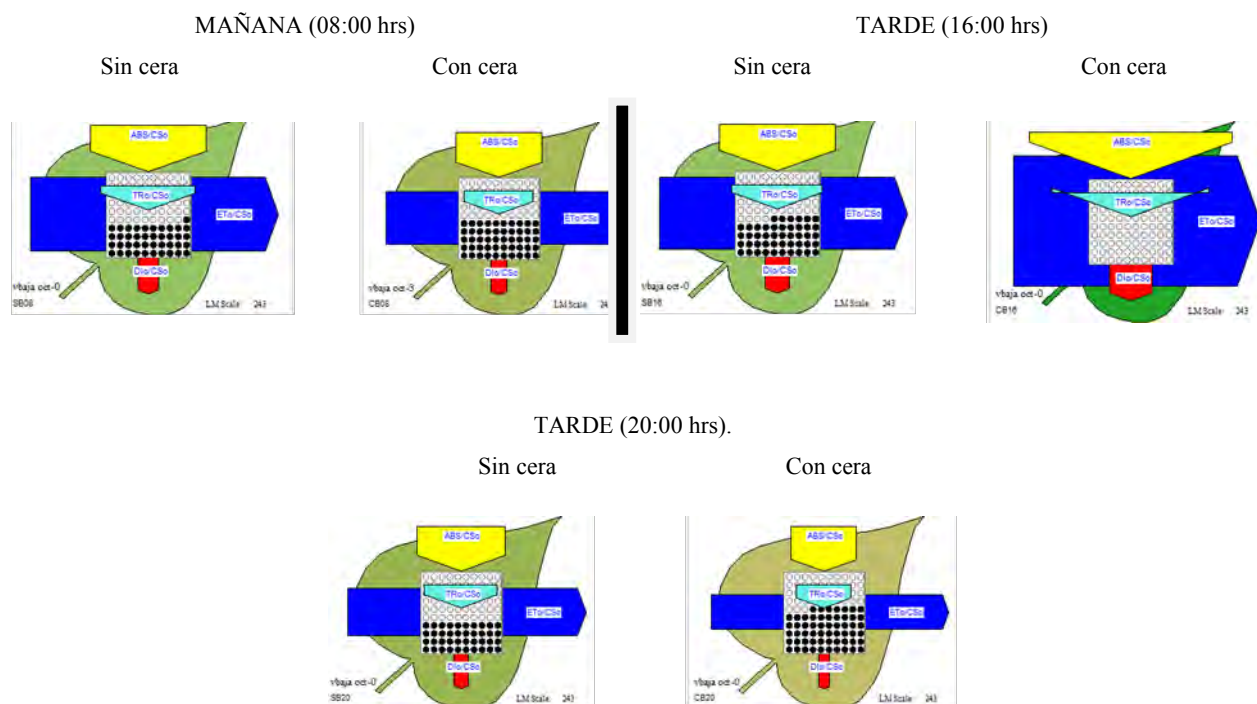


Figura 22. Modelos de hoja para el flujo de energía (absorción, captura de excitones, disipación y transporte de electrones) por sección transversal de hojas de *Echeveria laui*. El ancho de cada flecha corresponde a la intensidad del flujo de energía. Los puntos negros representan la cantidad de centros de reacción inactivos. Meses: Octubre y Noviembre (2010).

Sitio: Vivero Intensidad Baja.

En los gráficos radiales, en las plantas sin cera la fotoquímica primaria ϕ_{P_0} fue ligeramente mayor (figura 23), fenómeno que se presentó solamente en estos meses, cuando hubo elevada humedad relativa y baja temperatura. En cuanto a ψ_0 y ϕ_{E_0} , los valores fueron similares entre ambos

tratamientos, sin embargo, el PI_{abs} (índice de funcionamiento) en Octubre fue el único mes en el que el valor fue mejor en las plantas sin cera (en la mañana) y el valor de N (número de veces que Q_A se reduce desde el F_o hasta F_{max}) resultó muy elevado (no se muestra en el gráfico). En la tarde (16:00 hrs) se observó que los valores mejoraron para las plantas con cera y se mantuvieron así por el resto del día.

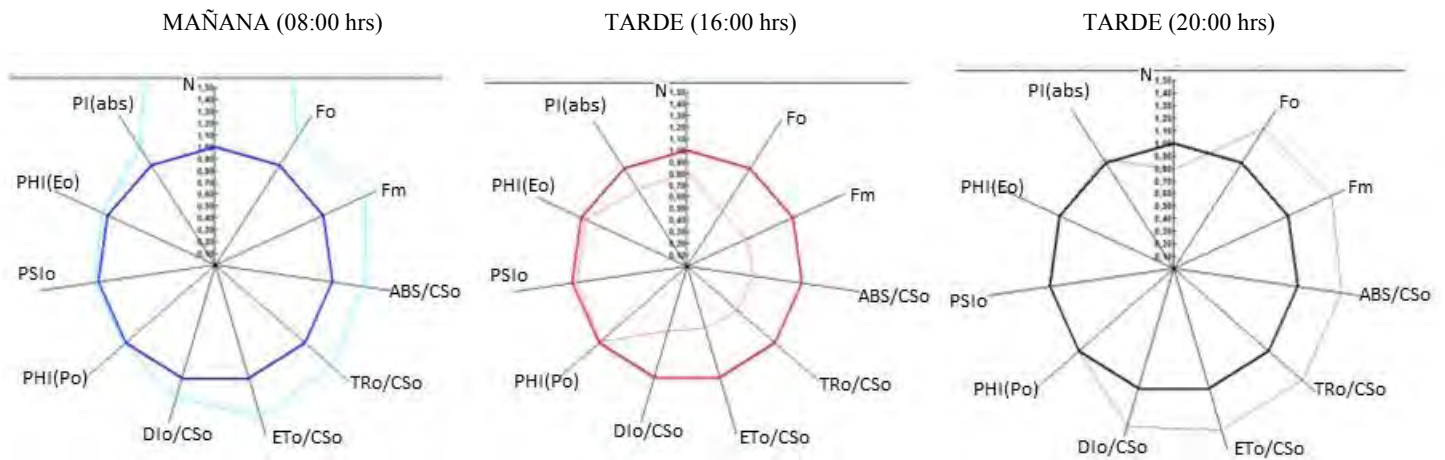


Figura 23. Gráficas radiales muestran todos los parámetros calculados. Las plantas con cera en colores oscuros, al centro y las plantas sin cera en colores claros. Parámetros graficados: F_o , F_m , ABS/CS_o , TR_o/CS_o , ET_o/CS_o , DI_o/CS_o , ψ_{Po} (PHIPo), ψ_{Eo} (PHIEo), PI_{abs} , N. Meses: Octubre y Noviembre (2010). Sitio: Vivero Intensidad Baja.

En estos dos meses (Octubre y Noviembre) podemos definir que hubo bajas temperaturas, y elevada humedad relativa e irradiación lumínica (cuadro 5).

Cuadro 5. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica. Año: 2010. Sitio: Vivero Intensidad Baja.

HR	OCTUBRE			NOVIEMBRE		
	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
00:00	22	99	0	18.1	89.2	0
04:00	22	99	0	16.3	91.6	0
08:00	24.6	94	11.6	21.2	90.4	2.4
12:00	33	56	44.6	33.2	48.9	48.4
16:00	36	43	62.8	30.8	44.7	7.6
20:00	24	99	0	21.3	79.6	0

La curva OJIP obtenida por la fluorescencia de la clorofila *a*, para los meses de Diciembre y Enero presentó en las plantas sin cera una inhibición ligera en las tres fases (J, I, P), lo que indicó que el transporte de electrones fue ligeramente menor (fig. 24).

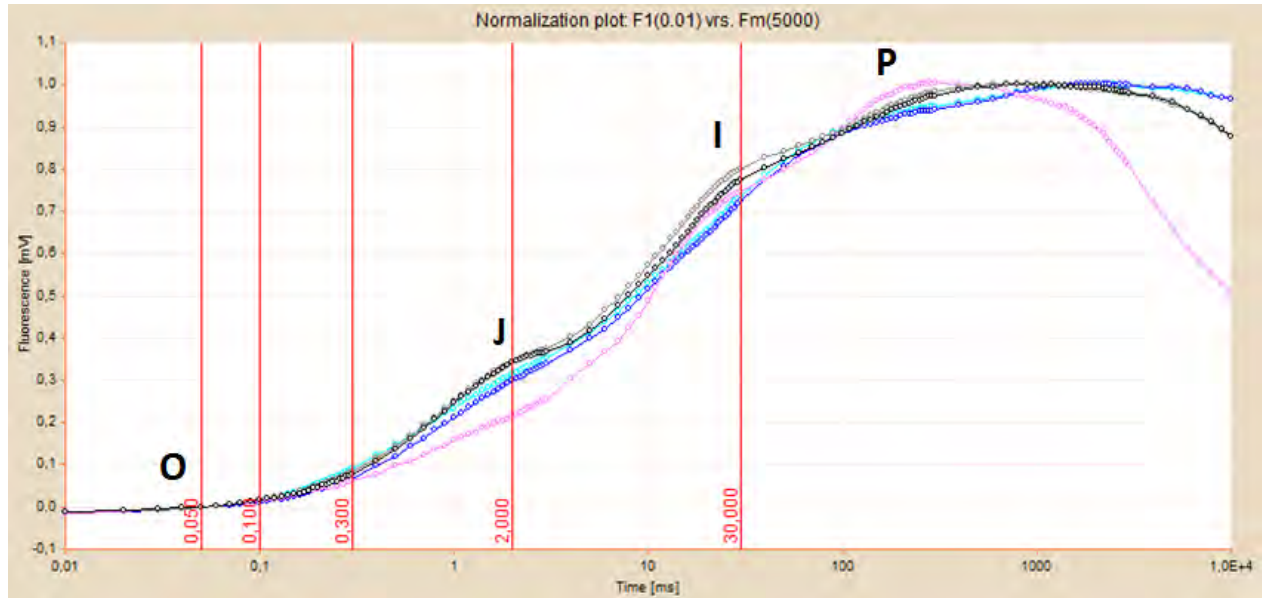


Figura 24. Análisis OJIP. Valores promedio de la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila *a* del FSII (normalizadas) en hojas de *Echeveria laui*. Curvas azules corresponden a las 08:00 hrs, curvas negras a 20:00 hrs. La curva de color rosa corresponde a plantas sin cera de las 16:00 hrs. Plantas con ceras representadas por colores oscuros y plantas sin cera representadas por colores claros. Meses: Diciembre (2010) y Enero (2011). Sitio: Vivero Intensidad Baja.

En los modelos de flujo de hoja (fig. 25), en las plantas sin cera el flujo de transporte electrónico (ETo/CSO) fue menor que el de las plantas con cera. En la mañana algunos centros de reacción estuvieron apagados en las plantas sin cera y conforme avanzó el día se encendieron.

En las plantas con cera hubo mayor ETo/CSO, los centros de reacción estuvieron abiertos en la mañana y se cerraron al paso del día lo que pudo afectar el transporte.

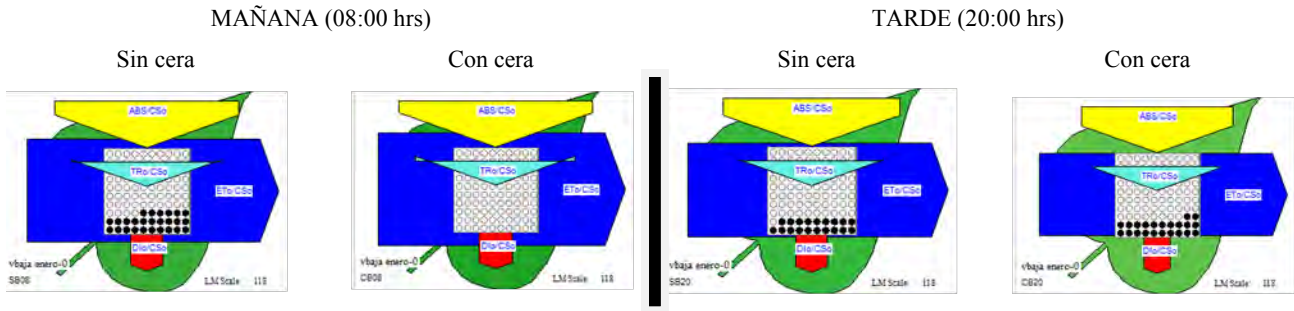


Figura 25. Modelos de hoja para el flujo de energía (absorción, captura de excitones, disipación y transporte de electrones) por sección transversal de hojas de *Echeveria laui*. El ancho de cada flecha corresponde a la intensidad del flujo de energía. Los puntos negros representan la cantidad de centros de reacción inactivos. Meses: Diciembre (2010) y Enero (2011).
 Sitio: Vivero Intensidad Baja.

Al analizar los valores de la teoría de flujo de membranas, los valores de φ_{Po} , ψ_o , φ_{Eo} , fueron similares entre ambos grupos de plantas. Pero el índice de funcionamiento PI_{abs} , fue menor en las plantas sin cera, tanto en el horario matutino como en el vespertino (fig. 26).

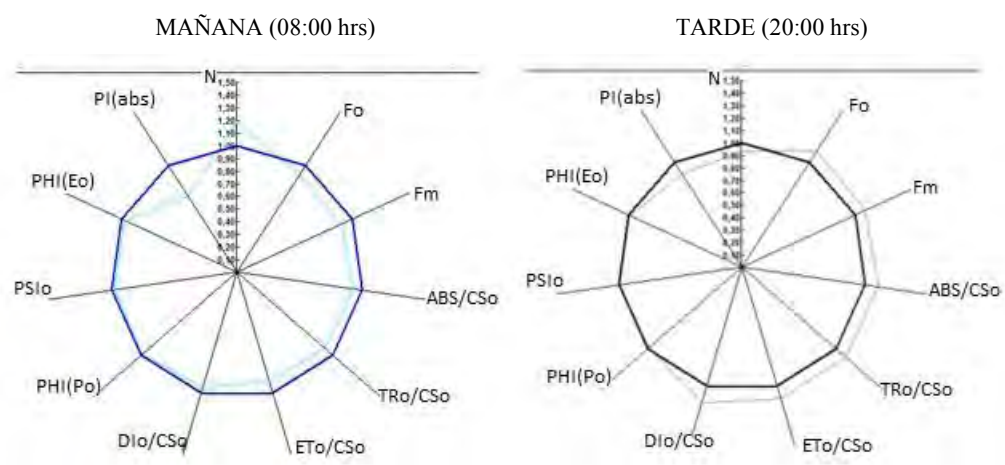


Figura 26. Gráficas radiales muestran todos los parámetros calculados. Las plantas con cera en colores oscuros, al centro y las plantas sin cera en colores claros. Parámetros graficados: Fo, Fm, ABS/CSo, TRo/CSo, ETa/CSo, DIa/CSo, φ_{Po} (PHIPo), ψ_o (PSIo), φ_{Eo} (PHIEo), PI_{abs} , N. Meses: Diciembre (2010) y Enero (2011). Sitio: Vivero Intensidad Baja.

En los meses de Diciembre y Enero la humedad relativa comenzó a decaer, la temperatura comenzó a elevarse y la intensidad de luz fue baja (cuadro 6).

Cuadro 6. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica. Año 2010-2011. Sitio: Vivero Intensidad Baja.

HR	DICIEMBRE			ENERO		
	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
00:00	16.2	88	0	16.6	82	0
04:00	15.4	94	0	10.4	84.1	0
08:00	12	99	2	9	86	0.6
12:00	27.6	46	39.2	27.6	37.7	39.4
16:00	28.8	44	24	34.8	31.1	28.2
20:00	17.2	76	0	20.2	69.6	0

La curva OJIP obtenida por la fluorescencia a, para los meses de Febrero, Marzo y Abril en las plantas sin cera, hubo inhibición en las fases J e I, pero en la fase P (paso de electrones a la plastoquinona) el transporte se comportó de manera similar entre ambas plantas (fig. 27).

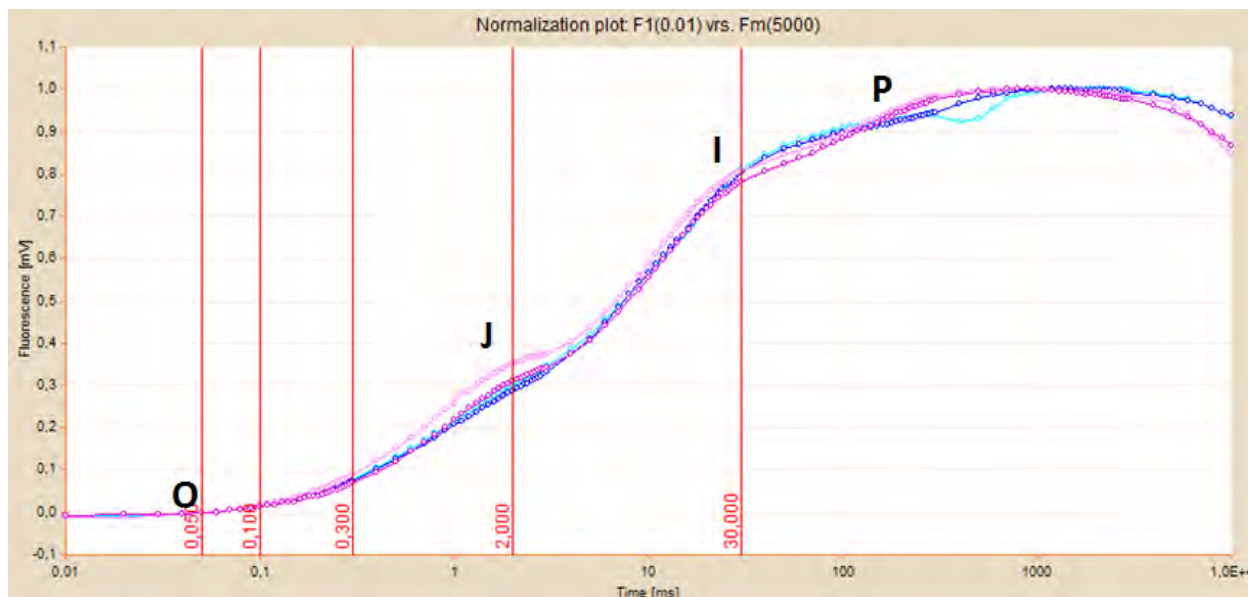


Figura 27. Análisis OJIP. Valores promedio de la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila a del FSII (normalizadas) en hojas de *Echeveria laui*. Curvas azules corresponden a horarios matutinos y las rosas a horarios vespertinos. Plantas con cera representadas por colores oscuros y plantas sin cera representadas por colores claros.

Meses: Febrero, Marzo y Abril (2011). Sitio: Vivero Intensidad Baja.

El modelo de flujo de hoja (fig. 28) mostró que en ambos tratamientos hubo valores altos de absorción (ABS/CS₀), flujo atrapado (TRo/CS₀), transporte electrónico (ETo/CS₀) y pocos centros de reacción apagados. Estos valores disminuyeron en la tarde, siendo ligeramente mayores en las plantas sin cera.

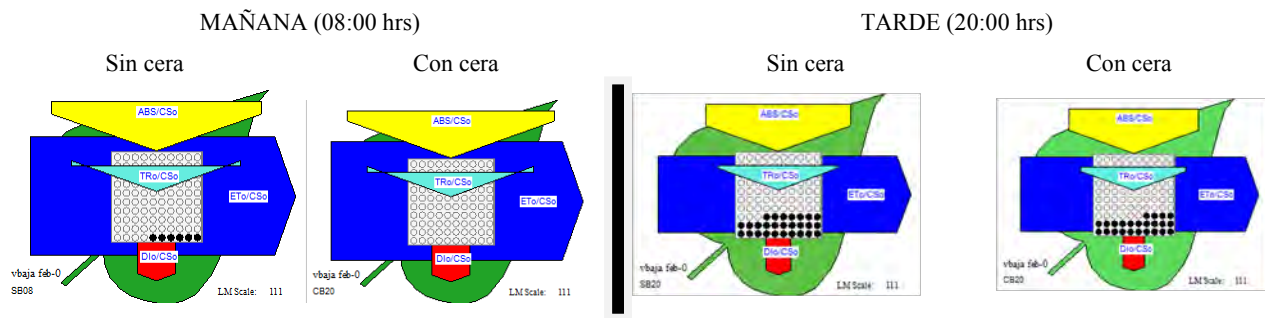


Figura 28. Modelos de hoja para el flujo de energía (absorción, captura de excitones, disipación y transporte de electrones) por sección transversal de hojas de *Echeveria laui*. El ancho de cada flecha corresponde a la intensidad del flujo de energía. Los puntos negros representan la cantidad de centros de reacción inactivos. Meses: Febrero, Marzo y Abril (2011).

Sitio: Vivero Intensidad Baja.

En los valores de la fotoquímica primaria (ϕ_{P_0}), la eficiencia con la que un excitón atrapado puede mover un electrón más allá de Q_A^- en la cadena transportadora de electrones (ψ_0), la probabilidad de que un fotón absorbido mueva un electrón en la cadena transportadora de electrones (ϕ_{E_0}) y el índice de funcionamiento (PI_{abs}) fueron ligeramente menores en las plantas sin cera en la mañana. En la tarde, estos valores disminuyeron, marcando la diferencia entre las plantas con sin cera y con cera, lo que significó un mejor acarreo de electrones en estas últimas (fig. 29).

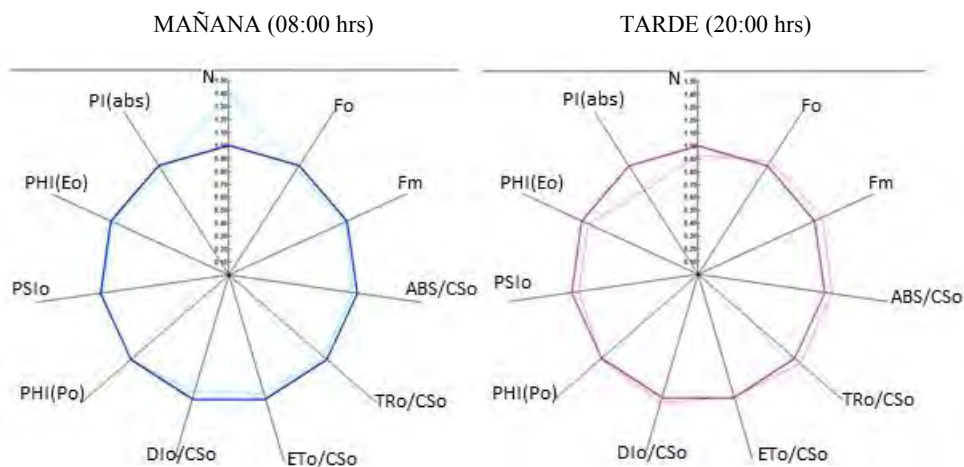


Figura 29. Gráficas radiales muestran todos los parámetros calculados. Las plantas con cera en colores oscuros, al centro y las plantas sin cera en colores claros. Parámetros graficados: Fo, Fm, ABS/CSo, TRo/CSo, ETo/CSo, DI/CSo, ϕ_{Po} (PHIPo), ψ_o (PSIo), ϕ_{Eo} (PHIEo), PI_{abs} , N. Meses: Febrero, Marzo y Abril (2011). Sitio: Vivero Intensidad Baja.

En estos meses (Febrero, Marzo y Abril) comenzó un incremento de temperatura, luz y un descenso de la humedad relativa (cuadro 7).

Cuadro 7. Temperatura, humedad relativa e irradiación luminica. Año 2011. Sitio: Vivero Intensidad Baja.

HR	FEBRERO			MARZO			ABRIL		
	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
00:00	19.6	85	0	22.1	71.6	0	24.4	70	0
04:00	16.8	98	0	19.8	81.2	0	24.9	55	0
08:00	15.9	98	1	18.6	85.3	1.6	23.9	63	11
12:00	33.6	28	41.8	33.4	40.7	38.2	35.9	27	40.6
16:00	35.6	24	34.6	38.6	26.2	38.2	43	14	42.4
20:00	23.8	62	2	27.3	55.1	0	31.8	37	0

Resumiendo los comportamientos observados en el análisis OJIP mediante la fluorescencia de la clorofila *a*, en las plantas sin cera se obtuvo un buen acarreo de electrones en la cadena transportadora, en los meses de temperatura baja y humedad relativa alta (cuadro 8). Este comportamiento se presentó en los meses de Octubre y Noviembre, viéndose reflejado en el de funcionamiento (PI_{abs}) de las plantas sin cera. Mientras que en Diciembre y Enero comenzó el aumento de temperatura y descenso de humedad relativa, los valores de la fotoquímica primaria (ϕ_{p0}), la eficiencia con la que un excitón atrapado puede mover un electrón más allá de QA^- en la cadena transportadora de electrones (ψ_0), la probabilidad de que un fotón absorbido mueva un electrón en la cadena transportadora de electrones (ϕ_{E0}) resultaron iguales entre las plantas con cera y sin cera.

Cuadro 8. Resumen de los análisis OJIP para el sitio VIB. SC= Plantas Sin Cera. CC= Plantas Con Cera. El símbolo (*) indica una diferencia ligera. La zona sombreada indica que los parámetros ϕ_{p0} , ψ_0 , ϕ_{E0} y PI_{abs} fueron mejores en las plantas SC.

Año Mayo 2010 – Abril 2011.

MES	TEMPERATURA	HUMEDAD	LUZ	FASE J	FASE I	FASE P	ϕ_{p0}	ψ_0	ϕ_{E0}	PI_{abs}
Mayo Junio	Elevada	Baja	Elevada	Inhibida SC	Inhibida SC	Inhibida SC	SC<CC	SC<CC	SC<CC	SC<CC
Julio Agosto	En descenso	En aumento	En aumento	Inhibida SC	Estimulada SC	Estimulada SC	SC*<CC	SC*<CC	SC*<CC	SC*<CC
Octubre Noviembre	Baja	Elevada	Elevada	Estimulada SC o igual	Estimulada SC o igual	Estimulada SC o igual	SC*>CC	SC=CC	SC=CC	SC \geq CC
Diciembre Enero	En aumento	En descenso	Baja	Inhibida ligeramente SC	Inhibida ligeramente SC	Inhibida ligeramente SC	SC=CC	SC=CC	SC=CC	SC<CC
Febrero Marzo Abril	Elevada	Baja	En aumento	Inhibida SC	Inhibida SC	Equivalente entre SC y CC	SC*<CC	SC*<CC	SC*<CC	SC<CC

Acumulación de ácidos orgánicos y dinámica estomática.

Las determinaciones de ácidos orgánicos fueron realizadas para detectar las diferencias en el metabolismo MAC, entre las plantas con cera y sin cera. En ambos grupos se pudo apreciar la acumulación nocturna de ácidos orgánicos que identifica este comportamiento metabólico.

En los meses de Mayo (fig. 30) y Junio se encontraron diferencias significativas, cuando se apreció que la acumulación fue mayor en las plantas sin cera. En los meses restantes no hubo diferencias significativas.

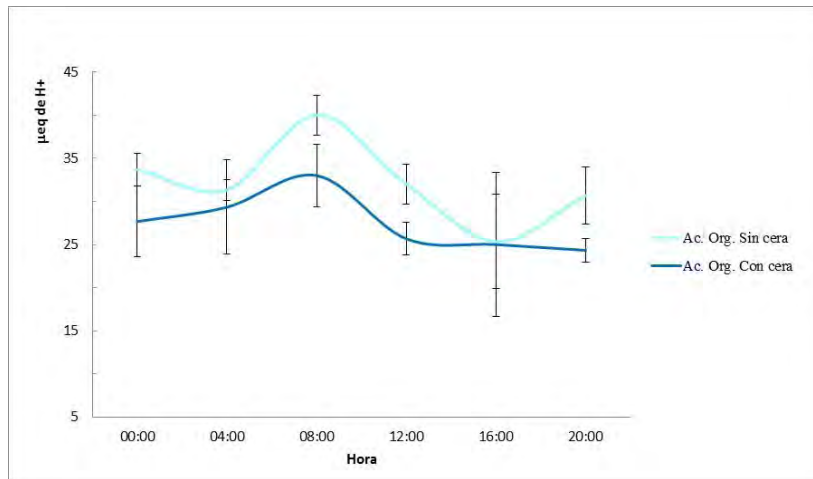


Figura 30. Acumulación de ácidos orgánicos en *Echeveria laui* del mes de Mayo. El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre plantas con cera y plantas sin cera. En el mes de Junio se encontró un comportamiento y diferencias similares.

Las barras representan \pm error estándar, $n=3$. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$.

Año: 2010. Sitio: Vivero Intensidad Baja.

En la dinámica estomática se encontró el patrón inverso de apertura estomática típica del metabolismo MAC. En los meses de Junio y Agosto se encontraron diferencias significativas, lo que indicó una mayor apertura en las plantas sin cera (fig. 31).

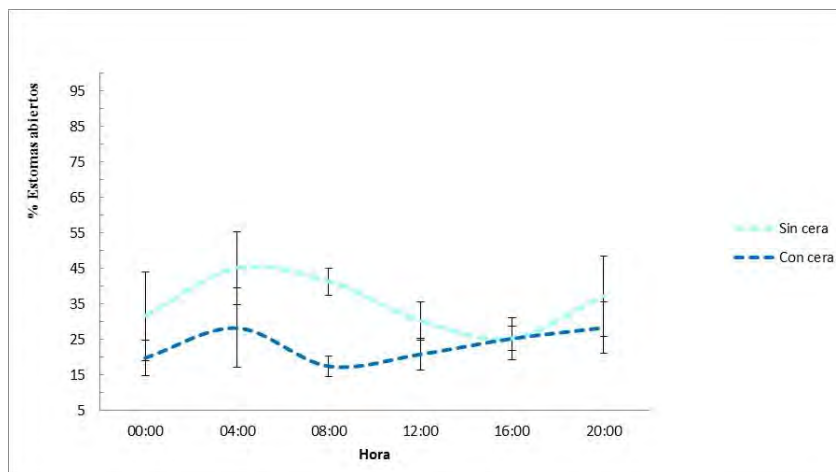


Figura 31. Apertura estomática en *Echeveria laui* del mes de Junio. El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre plantas con cera y plantas sin cera. En el mes de Agosto se encontró un comportamiento y diferencias similares.

Las barras representan \pm error estándar, $n=3$. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$.

Año: 2010. Sitio: Vivero Intensidad Baja.

Por otro lado, durante los meses de Septiembre y Marzo también hubo diferencias significativas que indicaron que en las plantas con cera hubo mayor apertura estomática. (fig. 32).

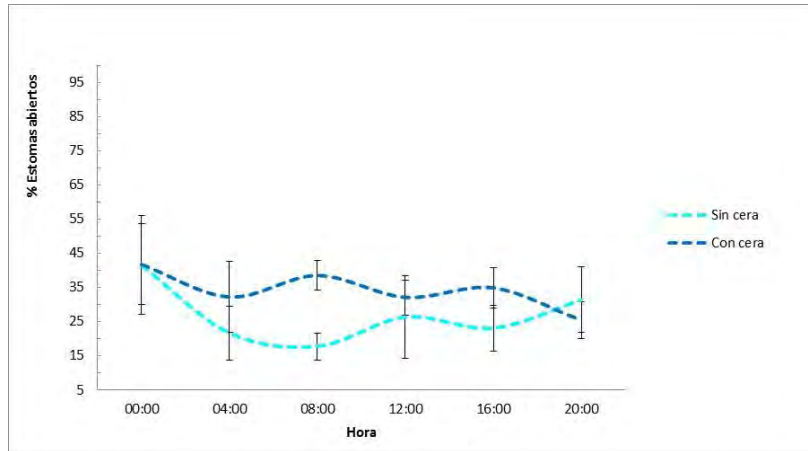


Figura 32. Apertura estomática en *Echeveria laui* del mes de Septiembre (2010). El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre plantas con cera y plantas sin cera. En el mes de Marzo (2011) se encontró un comportamiento y diferencias similares. Las barras representan \pm error estándar, n=3. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$.

Sitio: Vivero Intensidad Baja.

Temperatura de la hoja.

Al medir la temperatura de las hojas entre ambas plantas (con cera y sin cera) solamente se registraron diferencias significativas durante el mes de Julio (fig. 33), cuando las hojas sin cera presentaron una mayor temperatura.

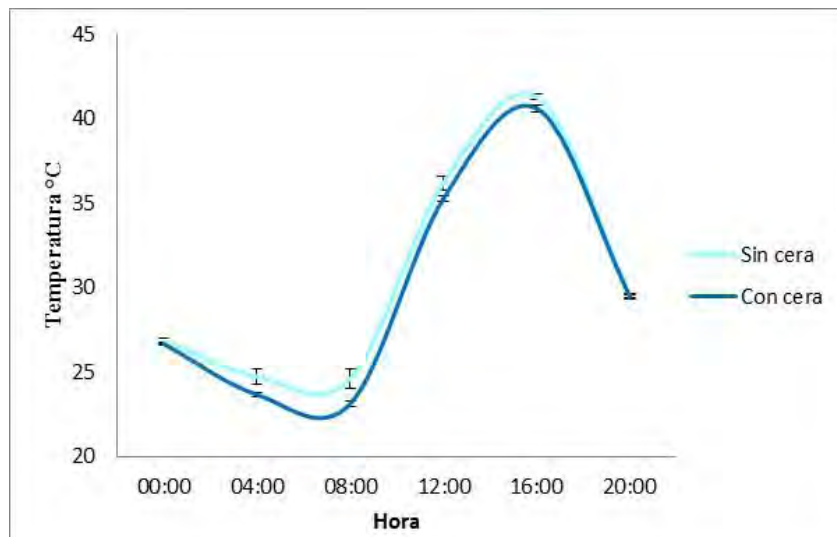


Figura 33. Temperatura de las hojas de *Echeveria laui* del mes de Julio. Las barras representan \pm error estándar, n=3. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$. Año 2010. Sitio: Vivero Intensidad Baja.

Cuantificación de Clorofilas.

Clorofila a. El análisis estadístico indicó diferencias significativas en los meses de Junio y Julio, cuando hubo mayor cantidad de clorofila a en las plantas sin cera (fig. 34).

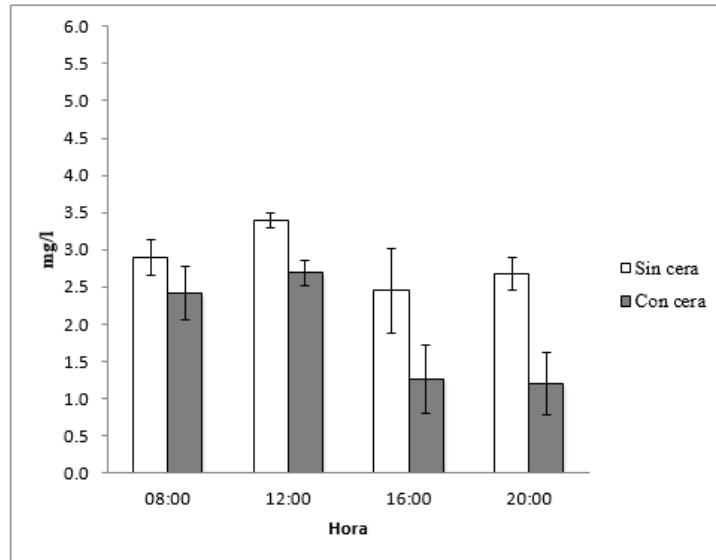


Figura 34. Concentración de clorofila a en *Echeveria laui* del mes de Junio. El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre plantas con cera y sin cera. En el mes de Julio se encontró un comportamiento y diferencias similares. Las barras representan \pm error estándar, n=3. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$. Año 2010. Sitio: Vivero Intensidad Baja.

Clorofila b. El análisis indicó diferencias significativas en los meses de Junio y Septiembre, lo que se interpretó como una mayor cantidad de clorofila b en las plantas sin cera (fig. 35).

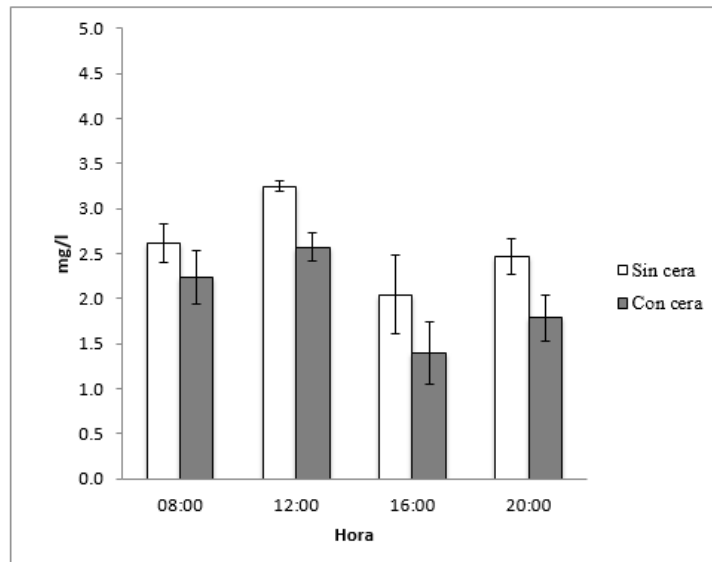


Figura 35. Concentración de clorofila b en *Echeveria laui* del mes de Junio. El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre plantas con cera y sin cera. En el mes de Septiembre se encontró un comportamiento y diferencias similares. Las barras representan \pm error estándar, n=3. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$. Año 2010.

Sitio: Vivero Intensidad Baja.

Clorofilas totales. El análisis evidenció diferencias significativas en los meses de Junio y Julio (fig. 36), cuando las plantas sin cera tuvieron una mayor cantidad de clorofilas totales.

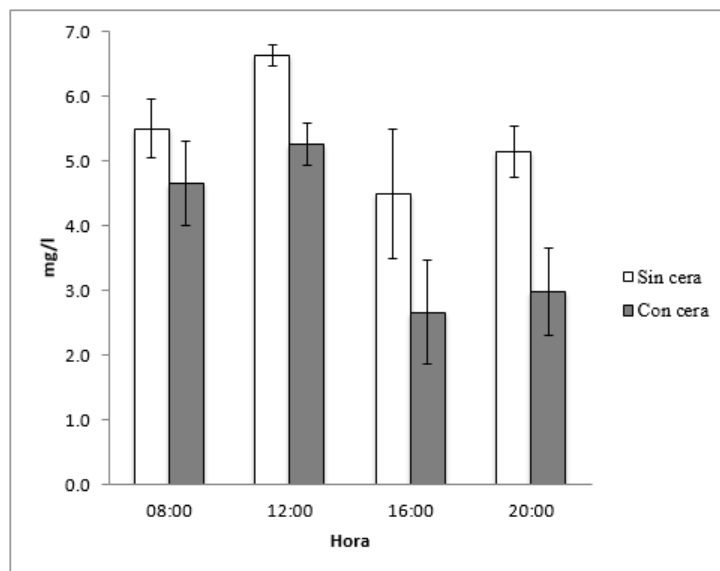


Figura 36. Concentración de clorofilas totales en *Echeveria laui* del mes de Junio. El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre plantas con cera y sin cera. En el mes de Julio se encontró un comportamiento y diferencias similares. Las barras representan \pm error estándar, $n=3$. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$. Año 2010.

Sitio: Vivero Intensidad Baja

Relación clorofila a/b. El análisis indicó diferencias en el mes de Marzo en siendo las plantas sin cera las que presentaron un cociente de clorofila a y b más elevado (fig. 37).

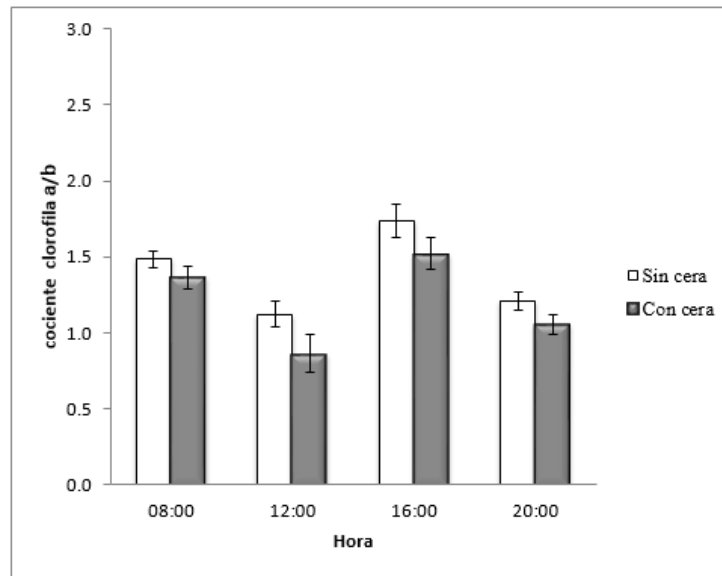


Figura 37. Relación entre clorofila a y b en *Echeveria laui* del mes de Marzo. El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre plantas con cera y sin cera. Las barras representan \pm error estándar, n=3. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$. Año 2010. Sitio: Vivero Intensidad Baja

Perfil de pigmentos.

Los cromatogramas de los pigmentos de las plantas con cera y sin cera se obtuvieron al finalizar los 12 meses de experimentación, debido a una diferencia de coloración (tonalidad rojiza) que se presentó en algunas plantas, entre las diferentes condiciones ambientales.

Entre las plantas con cera y sin cera no presentaron diferencias en los picos de absorción (fig. 38) y se encontró los pigmentos fotosintéticos de clorofila a (fig. 39) y b (fig. 40). No hubo presencia de otros pigmentos como los pertenecientes al ciclo de las xantofilas.

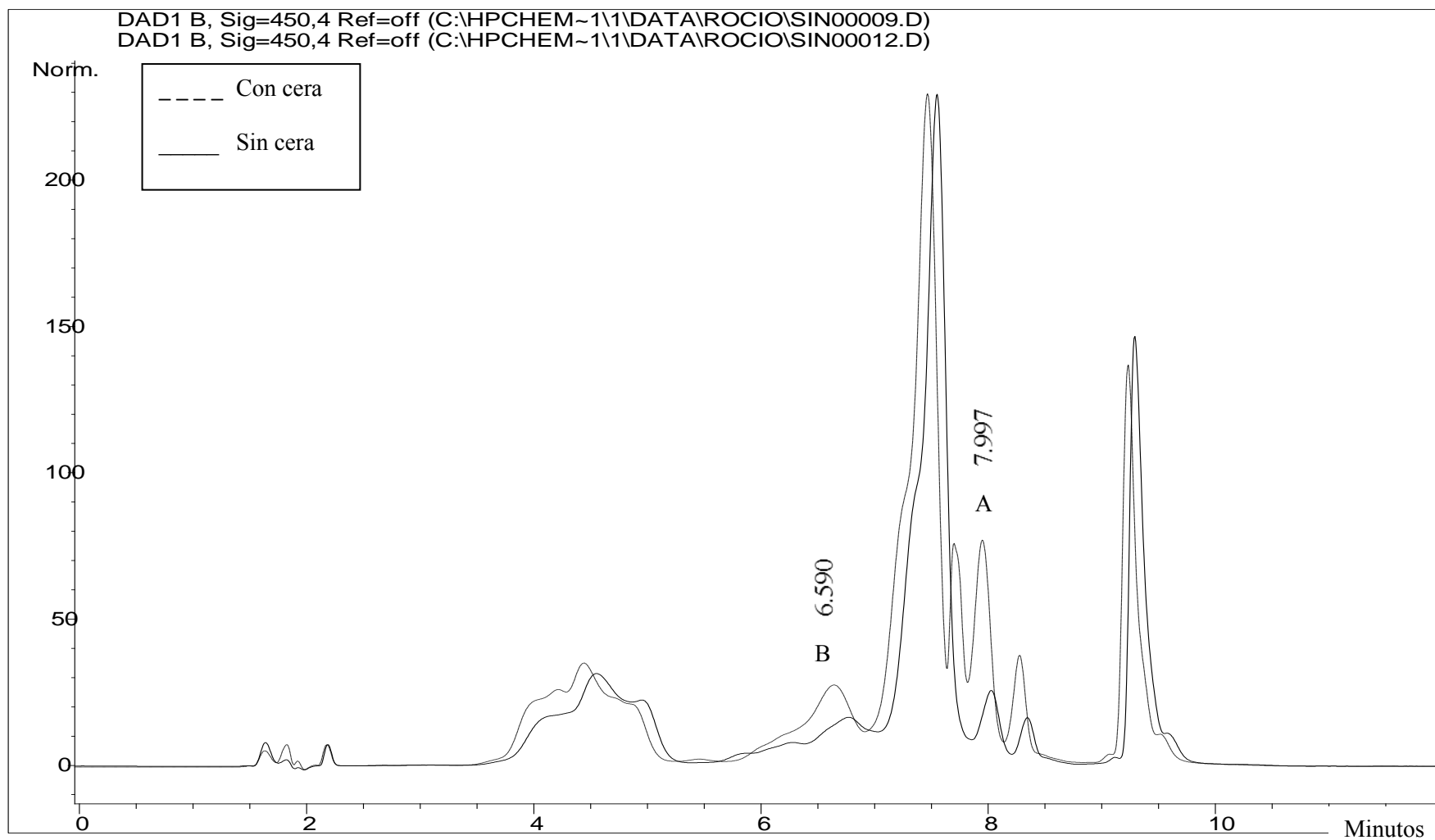


Figura 38. Perfil de pigmentos en HPLC de plantas con cera y sin cera de *Echeveria laui*. No se observó diferencias entre los cromatogramas. A: Tiempo de retención para la clorofila a. B: Tiempo de retención para la clorofila b. Perfil obtenido al final del experimento (Mayo 2010- Abril 2011). Sitio Vivero Intensidad Baja.

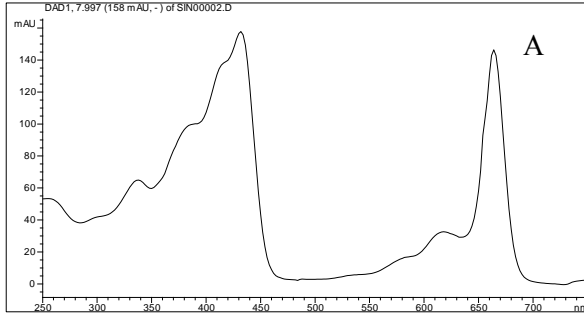


Figura 39. Espectro de absorción de la clorofila a.

Abs = 432, 664.

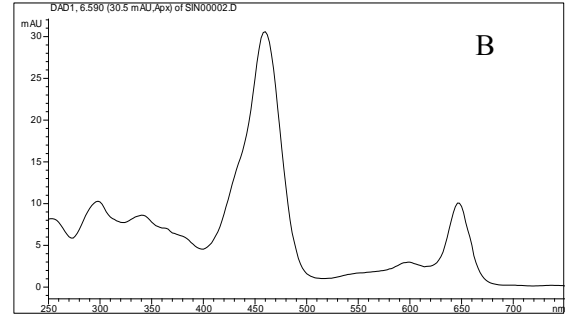


Figura 40. Espectro de absorción de la clorofila b.

Abs = 460, 646.

Vivero Intensidad Alta (VIA).

Durante un año se midió mensualmente la temperatura, humedad relativa e irradiación de lumínica (fig. 41). Dichos valores se promediaron (Mayo 2010-Abril 2011) para observar su comportamiento a lo largo de un año, de modo que podemos observar los meses con condiciones de elevada temperatura y baja humedad relativa y viceversa.

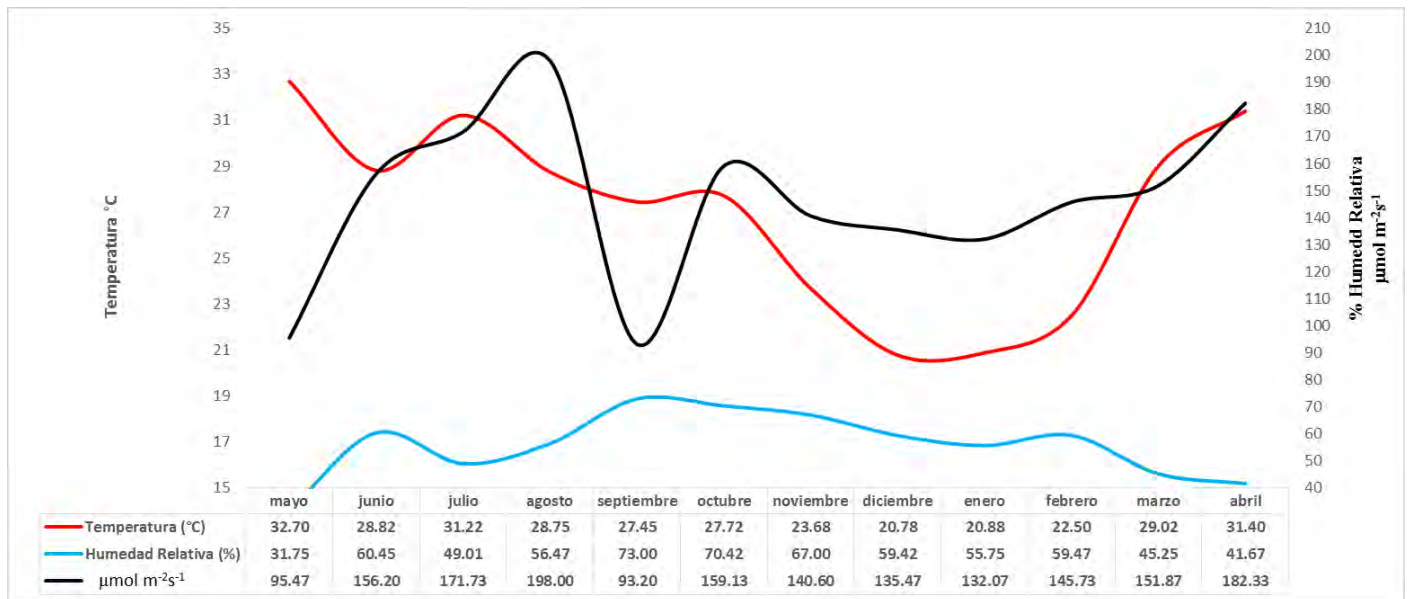


Figura 41. Temperatura, Humedad Relativa e Irradiación lumínica en el Vivero Intensidad Alta (VIA).

Período Mayo 2010-Abril 2011.

Cuantificación de la fotosíntesis mediante la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila a.

A continuación se presentan los resultados de la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila a, en base al análisis OJIP en la condición VIA. Este análisis se hizo basándose principalmente en dos horarios, mañana (08:00 hrs) y tarde (20:00 hrs) ya que el POCKET PEA pudo registrar siempre las lecturas en esos horarios. Una vez analizados los datos, se agruparon los meses que presentaron comportamientos similares.

La curva OJIP obtenida por la fluorescencia de la clorofila a, para los meses de Mayo, Junio, Agosto, Octubre (2010), Marzo y Abril (2011) mostró una inhibición en la cadena transportadora de electrones, en la reducción parcial de Q_A (fase J), en la reducción parcial de Q_A^- y Q_B (fase I) y hubo valores similares entre los tratamientos en la fase P (reducción de plastoquinona) (fig. 42).

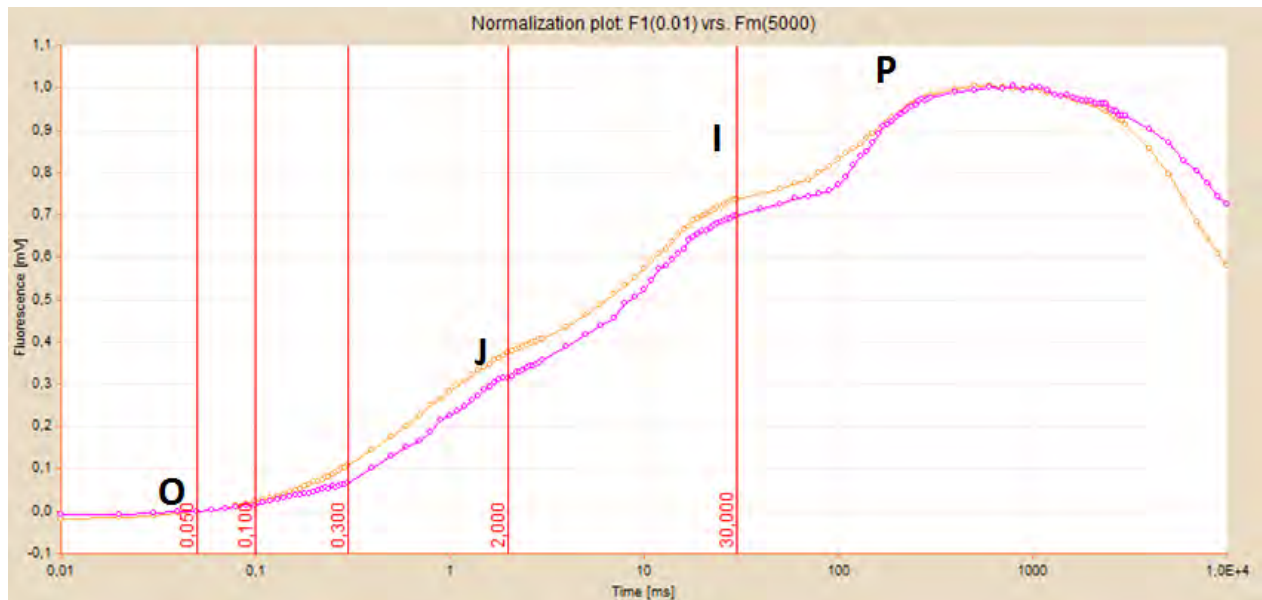


Figura 42. Análisis OJIP. Valores promedio de la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila a del FSII (normalizadas) en hojas de *Echeveria laui*. Curvas rosas corresponden a horarios vespertinos. Plantas con cera representadas por colores oscuros y plantas sin cera representadas por colores claros. Meses: Mayo, Junio, Agosto, Octubre (2010), Marzo, Abril (2011).

Sitio: Vivero Intensidad Alta.

En los modelos de flujo de hoja (fig. 43) para los meses citados, en la mañana se presentó una gran cantidad de centros de reacción apagados (más del 50% en ambos tratamientos), conforme pasó el día, los centros de reacción se encendieron en las plantas con cera, con lo que flujo absorbido (ABS/CSo), flujo atrapado (TRo/CSo), y el flujo de transporte electrónico (ETo/CSo) se incrementó notoriamente, mientras que las plantas sin cera mantuvieron los centros apagados y valores bajos de ABS/CSo, TRo/CSo, ETo/CSo y DI/CSo.

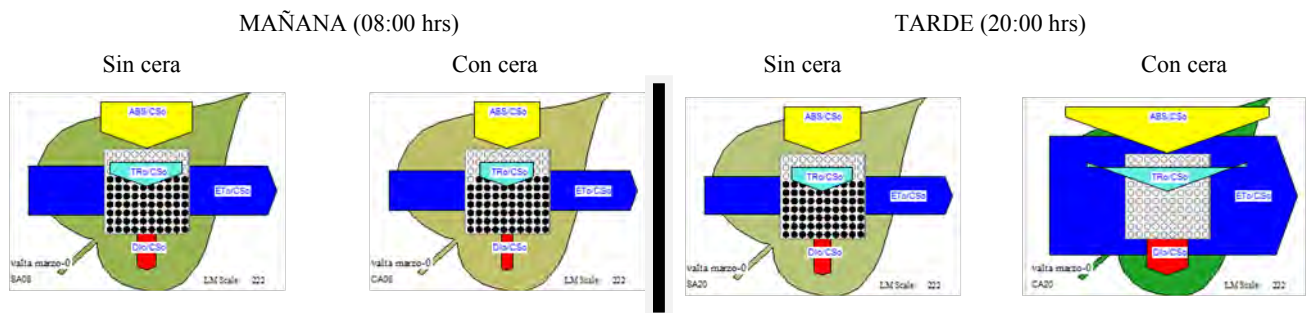


Figura 43. Modelos de hoja para el flujo de energía (absorción, captura de excitones, disipación y transporte de electrones) por sección transversal de hojas de *Echeveria laui*. El ancho de cada flecha corresponde a la intensidad del flujo de energía. Los puntos negros representan la cantidad de centros de reacción inactivos. Meses: Mayo, Junio, Agosto, Octubre (2010), Marzo, Abril (2011). Sitio: Vivero Intensidad Alta.

Los parámetros de la teoría de flujo de energía en biomembranas se representaron en gráficos radiales (fig. 44) mostrando que en la mañana los valores de F_o , F_m , ABS/CSo, TRo/CSo, ETo/CSo, DI/CSo fueron mayores en la plantas sin cera, pero en la tarde estos valores decrecieron en comparación a las plantas con cera.

Los valores de la fotoquímica primaria (ϕ_{P_0}), la eficiencia con la que un excitón atrapado puede mover un electrón más allá de Q_A^- en la cadena transportadora de electrones (ψ_0), la probabilidad de que un fotón absorbido mueva un electrón en la cadena transportadora de electrones (ϕ_{E_0}) y el índice de funcionamiento (PI_{abs}) fueron mayores en las plantas con cera tanto en la mañana como en la tarde.

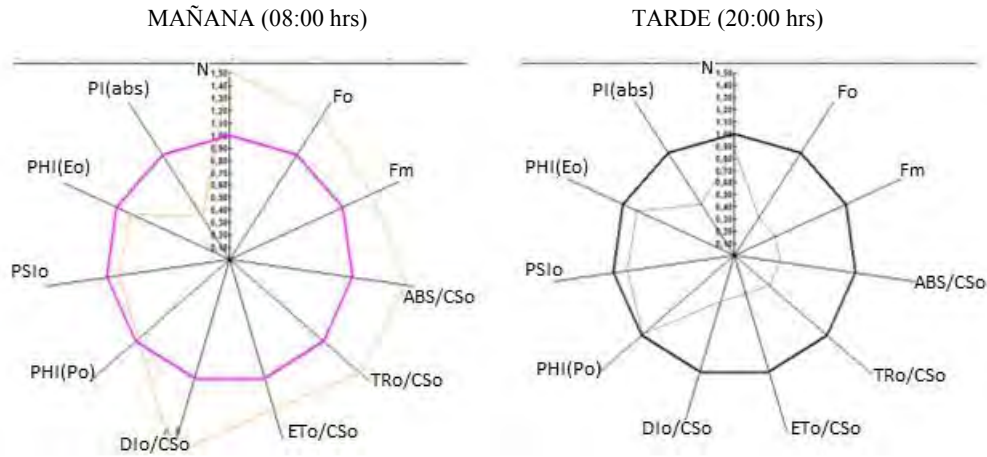


Figura 44. Gráficas radiales muestran todos los parámetros calculados. Las plantas con cera en colores oscuros, al centro y las plantas sin cera en colores claros. Parámetros graficados: Fo, Fm, ABS/CSO, TRo/CSO, ETo/CSO, DI/CSO, ϕ_{Po} (PHIPo), ψ_o (PSIo), ϕ_{Eo} (PHIEo), PI_{abs} , N. Meses: Mayo, Junio, Agosto, Octubre, Marzo y Abril. Sitio: Vivero Intensidad Alta.

Los meses de Mayo, Junio, Agosto, Octubre, Marzo y Abril, presentaron temperaturas elevadas, altas irradiaciones luminosas y bajas humedades relativas, como se aprecia en el cuadro 9 (excepto Octubre). Estos meses pueden corresponder al periodo de sequía al que se expone *Echeveria laui* en su medio ambiente natural.

Cuadro 9. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica. Año 2010 (Mayo-Octubre) y 2011 (Marzo y Abril). Sitio: Vivero Intensidad Alta.

HR	MAYO			JUNIO			AGOSTO		
	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
00:00	25.5	66	0	23.5	88.2	0	21.7	86	0
04:00	20.6	95	0	21.5	90.9	0	19.8	91	0
08:00	24.3	74	27.56	24.1	90	29.8	22.3	90.2	107.2
12:00	47.2	9	159.44	31.2	45.1	292.8	40.5	40.2	278.6
16:00	47.5	7	99.42	47	24.6	146	41.6	35.5	208.2
20:00	31.1	37	0	25.6	82.1	0	26.6	60	0

HR	OCTUBRE			MARZO			ABRIL		
	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
00:00	22.4	94.2	0	21.4	85	0	23	68.8	0
04:00	21.6	95.4	0	20.1	94	0	23.6	58.7	0
08:00	22.7	96.1	64.4	20.1	93	19.8	20.4	77.4	118.2
12:00	36.2	51.7	121.6	40.5	19	243.4	41.8	29.8	254
16:00	40.2	44.7	291.4	44.8	12	192.4	48.2	17.8	174.8
20:00	23.2	89.2	0	27.2	57	0	31.4	41.7	0

La curva OJIP obtenida por la fluorescencia de la clorofila *a*, para los meses de Julio, Noviembre, Diciembre y Enero (fig. 45) en las plantas sin cera se observó una inhibición en la fase J (reducción parcial de Q_A) y en las fases I y P existió una estimulación en el acarreo de electrones (reducción parcial de Q_A^- hasta plastoquinona).

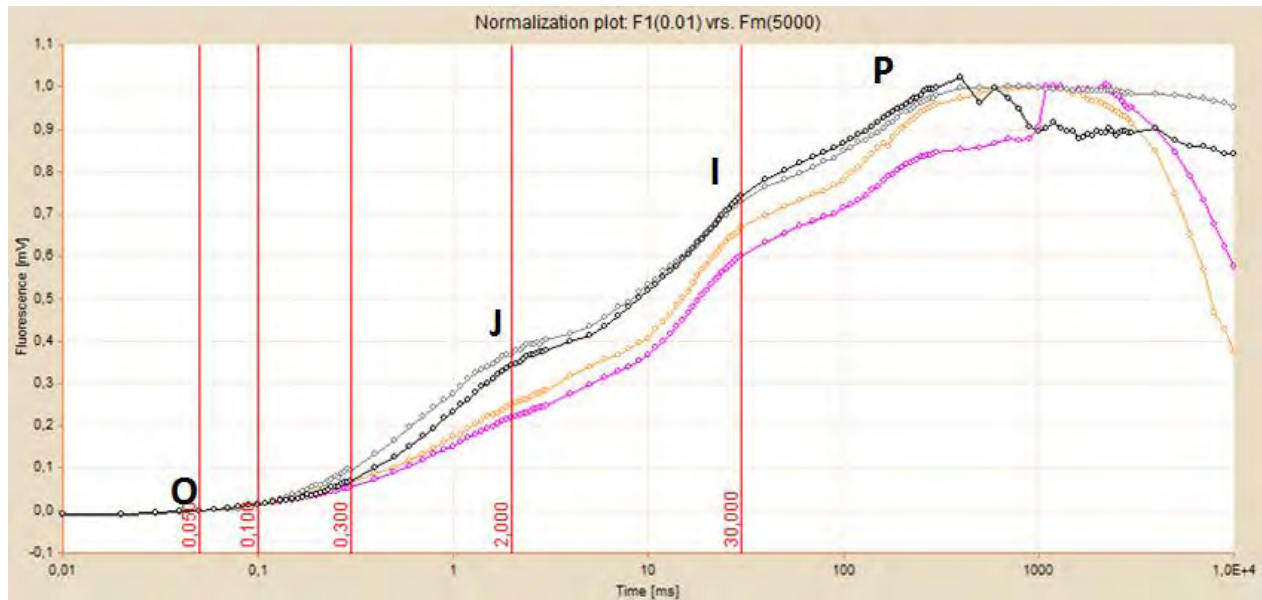


Figura 45. Análisis OJIP. Valores promedio de la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila *a* del FSII (normalizadas) en hojas de *Echeveria laui*. Curvas rosas corresponden al horario de las 16:00 hrs y curvas negras al horario de las 20:00 hrs. Plantas con cera representadas por colores oscuros y plantas sin cera representadas por colores claros. Meses: Julio, Noviembre, Diciembre (2010) y Enero (2011). Sitio: Vivero Intensidad Alta.

En el modelo de flujo de hoja se observó un transporte de energía bajo en los horarios matutinos que aumentó conforme avanzó el día. Sin embargo se observaron 2 comportamientos diferentes:

a) En los meses de Julio y Noviembre las plantas con cera y sin cera presentaron flujos de energía similares en la mañana, pero en la tarde en la plantas con cera fue mayor el ABS/CS_o , TR_o/CS_o , ET_o/CS_o y hubo apertura de centros de reacción (fig. 46).

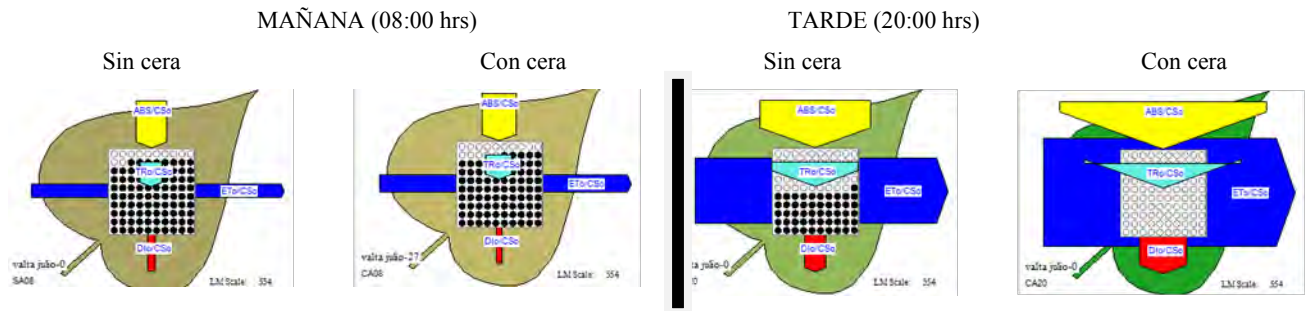


Figura 46. Modelos de hoja para el flujo de energía (absorción, captura de excitones, disipación y transporte de electrones) por sección transversal de hojas de *Echeveria laui*. El ancho de cada flecha corresponde a la intensidad del flujo de energía. Los puntos negros representan la cantidad de centros de reacción inactivos. Meses: Julio y Noviembre (2010).

Sitio: Vivero Intensidad Alta.

b) En los meses de Diciembre y Enero las plantas con cera y sin cera también presentaron flujos similares en los horarios matutinos, en la tarde en la plantas sin cera fue mayor el ABS/CS₀, TRo/CS₀, ETo/CS₀ y hubo apertura de centros de reacción (fig. 47).

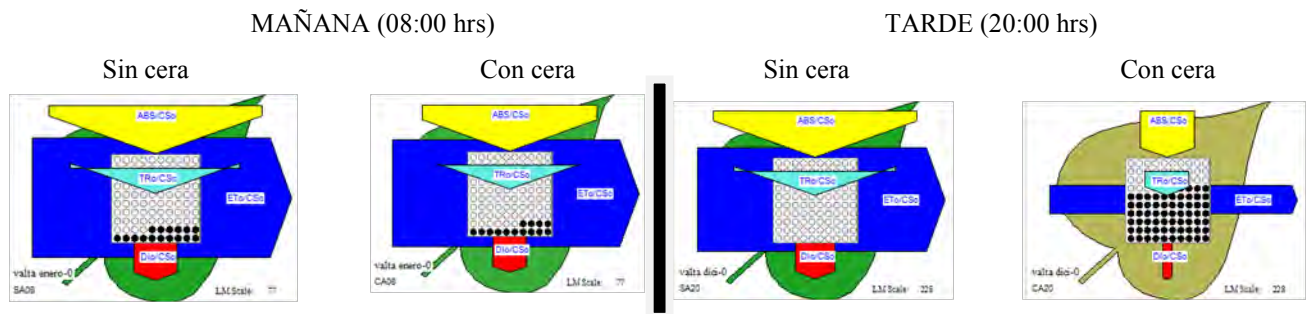


Figura 47. Modelos de hoja para el flujo de energía (absorción, captura de excitones, disipación y transporte de electrones) por sección transversal de hojas de *Echeveria laui*. El ancho de cada flecha corresponde a la intensidad del flujo de energía. Los puntos negros representan la cantidad de centros de reacción inactivos. Meses: Diciembre (2010) y Enero (2011).

Sitio: Vivero Intensidad Alta.

Los parámetros de la teoría de flujo de energía en biomembranas representados en gráficos radiales mostraron las mismas diferencias que en los modelos de flujo de hoja:

a) En los meses de Julio y Noviembre las plantas sin cera tuvieron valores ligeramente mayores en φ_{Po} , ψ_o , φ_{Eo} y $PI_{(abs)}$ (fig. 48).

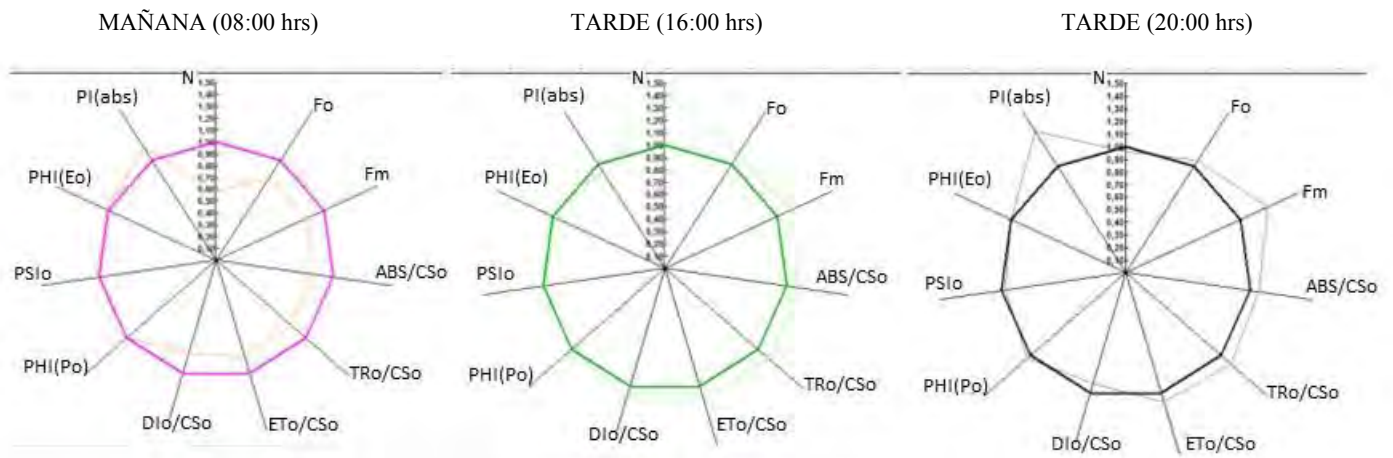


Figura 48. Gráficas radiales muestran todos los parámetros calculados. Las plantas con cera en colores oscuros, al centro y las plantas sin cera en colores claros. Parámetros graficados: Fo , Fm , ABS/CSo , TRo/CSo , ETo/CSo , DI/CSo , φ_{Po} (PHIPo), ψ_o (PSIo), φ_{Eo} (PHIEo), PI_{abs} , N . Meses: Julio y Noviembre (2010). Sitio: Vivero Intensidad Alta.

b) En los meses de Diciembre y Enero las plantas con cera tuvieron valores mayores en φ_{Po} , ψ_o , φ_{Eo} y $PI_{(abs)}$ (fig. 49).

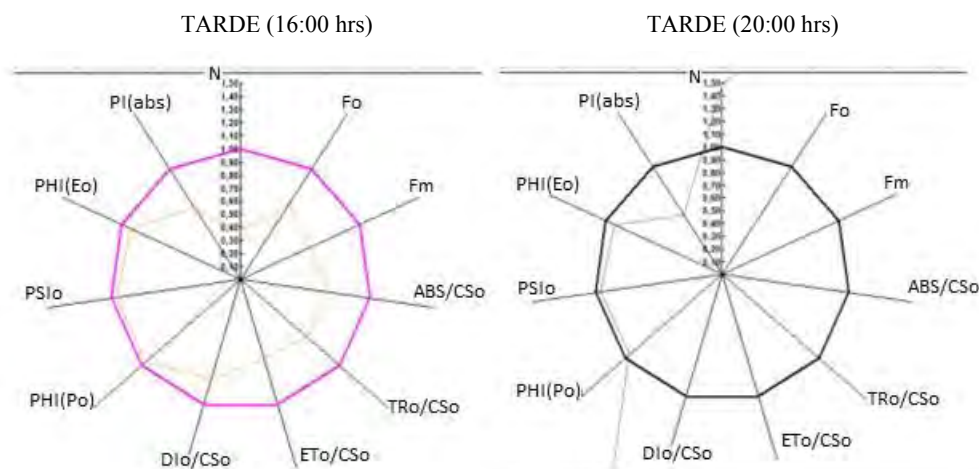


Figura 49. Gráficas radiales muestran todos los parámetros calculados. Las plantas con cera en colores oscuros, al centro y las plantas sin cera en colores claros. Parámetros graficados: Fo, Fm, ABS/CSO, TRo/CSO, ETa/CSO, DI/CSO, ϕ_{Po} (PHIPo), ψ_o (PSIo), ϕ_{Eo} (PHIEo), PI_{abs} , N. Meses: Diciembre (2010) y Enero (2011). Sitio: Vivero Intensidad Alta.

En los parámetros ambientales observamos que los meses de Julio, Noviembre, Diciembre y Enero hubo un aumento en la humedad relativa y una baja en temperatura (excepto Julio) En lo que respecta a los meses de Diciembre y Enero, estos presentaron una baja irradiación luminosa y decremento en la temperatura, lo que correspondería a la época fría (cuadro 10).

Cuadro 10. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica. Año 2010 (Julio-Diciembre) y 2011 (Enero). Sitio: Vivero Intensidad Alta.

HR	JULIO			NOVIEMBRE		
	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
00:00	26.5	70	0	19.9	99	0
04:00	22.4	98	0	18.6	99	0
08:00	24.9	85	45.2	18	99	11.8
12:00	40.7	27	246.8	35.9	33	385.2
16:00	46.7	13	223.2	27.1	61	24.8
20:00	26.1	71.05	0	22.6	75	0

HR	DICIEMBRE			ENERO		
	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
00:00	15.8	75.2	0	13.3	96	0
04:00	14.8	84.4	0	10.2	99	0
08:00	11.2	91	38	8.8	99	6
12:00	31.2	40.6	275.2	36.3	20	261.6
16:00	32.3	39.9	93.2	37	20	128.6
20:00	19.4	66.2	0	19.7	84	0

La curva OJIP obtenida por la fluorescencia de la clorofila a, para el mes de Febrero (2011) mostró en las plantas sin cera una estimulación en las fases J, I y P (fig. 50), lo que se significa que hubo un mayor transporte electrónico.

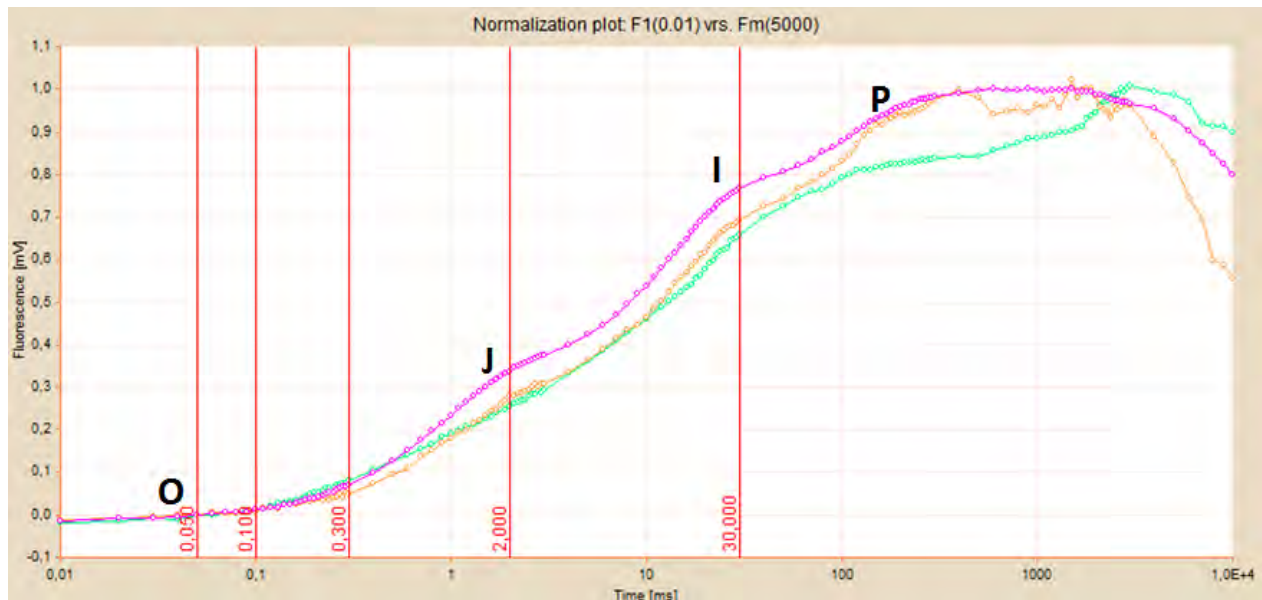


Figura 50. Análisis OJIP. Valores promedio de la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila a del FSII (normalizadas) en hojas de *Echeveria laui*. Curvas rosas corresponden al horario vespertino. Plantas con cera representadas por colores oscuros y plantas sin cera representadas por colores claros. La curva verde representa horario matutino para plantas sin cera.

Mes: Febrero (2011). Sitio: Vivero Intensidad Alta.

El modelo de flujo de hoja (fig. 51), mostró que en las plantas sin cera el flujo absorbido (ABS/CS_o), flujo atrapado (TR_o/CS_o), flujo de transporte electrónico (ET_o/CS_o), y el flujo de disipación de energía atrapada como calor (DI/CS_o) fue mayor. En las plantas sin cera hubo una menor cantidad de centros de reacción apagados.

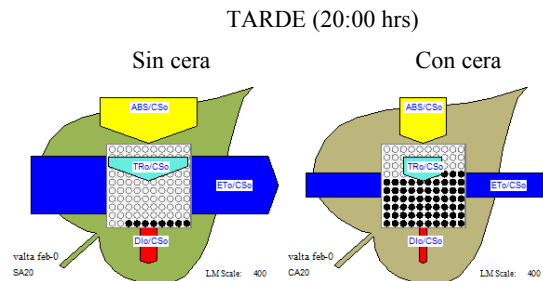


Figura 51. Modelos de hoja para el flujo de energía (absorción, captura de excitones, disipación y transporte de electrones) por sección transversal de hojas de *Echeveria laui*. El ancho de cada flecha corresponde a la intensidad del flujo de energía. Los puntos negros representan la cantidad de centros de reacción inactivos. Mes: Febrero (2011). Sitio: Vivero Intensidad Alta.

En los gráficos radiales (fig. 52) en las plantas sin cera se observó que la fotoquímica primaria (ϕ_{P_0}), la eficiencia con la que un excitón atrapado puede mover un electrón más allá de Q_A^- en la cadena transportadora de electrones (ψ_0), la probabilidad de que un fotón absorbido mueva un electrón en la cadena transportadora de electrones (ϕ_{E_0}) y el índice de rendimiento (PI_{abs}) fue mayor.

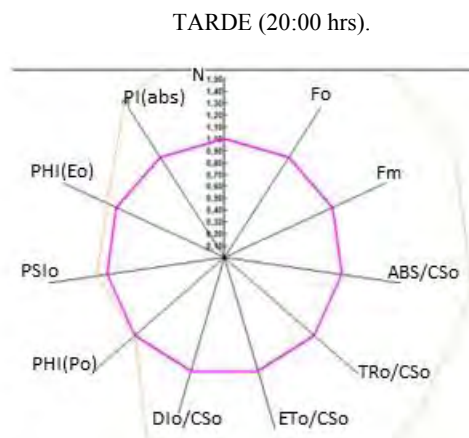


Figura 52. Gráficas radiales muestran todos los parámetros calculados. Las plantas con cera en colores oscuros, al centro y las plantas sin cera en colores claros. Parámetros graficados: Fo, Fm, ABS/CS_o, TR_o/CS_o, ET_o/CS_o, DI/CS_o, ϕ_{P_0} (PHIP_o), ψ_0 (PSI_o), ϕ_{E_0} (PHIE_o), PI_{abs} , N. Mes: Febrero (2010). Sitio: Vivero Intensidad Alta.

El mes de Febrero presentó bajas temperaturas, una elevada humedad relativa y una moderada irradiación lumínica (cuadro 11).

Cuadro 11. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica. Año 2011. Sitio: Vivero Intensidad Alta.

HR	FEBRERO		
	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
00:00	18	83.3	0
04:00	15.4	89.8	0
08:00	16.7	88.6	12.9
12:00	24.6	56.1	263.8
16:00	37.7	30	160.5
20:00	22.6	63.2	0

Resumiendo los comportamientos observados en el análisis OJIP mediante la fluorescencia de la clorofila **a**, en las plantas sin cera el Φ_{Po} , Ψ_o , Φ_{Eo} y PI_{abs} fueron mayores en los meses de temperatura baja y humedad relativa alta (Julio, Noviembre, Diciembre 2010, Enero y Febrero 2011) (cuadro 12).

Cuadro 12. Resumen de los análisis OJIP para el sitio VIA. SC= Plantas Sin Cera. CC= Plantas Con Cera. El símbolo (*) indica una diferencia ligera. La zona sombreada indica que los parámetros Φ_{Po} , Ψ_o , Φ_{Eo} y $PI_{(abs)}$ fueron mejores en las plantas SC. Año Mayo 2010 – Abril 2011.

MES	TEMPERATURA	HUMEDAD	LUZ	FASE J	FASE I	FASE P	Φ_{Po}	Ψ_o	Φ_{Eo}	$PI_{(abs)}$
Mayo Junio Agosto Octubre Marzo Abril	Elevada	Baja	Elevada	Inhibida SC	Inhibida SC	Equivalente entre SC y CC	SC<CC	SC<CC	SC<CC	SC<CC
Julio Noviembre Diciembre Enero	Baja (excepto Julio)	Alta (excepto Julio)	Alta	Inhibida SC	Estimulada SC	Estimulada SC	SC* \geq CC	SC* $>$ CC	SC* $>$ CC	SC* $>$ CC
Febrero	Baja	Alta	En aumento	Estimulada SC	Estimulada SC	Estimulada SC	SC<CC	SC<CC	SC<CC	SC<CC
							SC>CC	SC>CC	SC>CC	SC>CC

Acumulación de ácidos orgánicos y dinámica estomática.

Las determinaciones de ácidos orgánicos fueron realizadas para detectar las diferencias en el metabolismo MAC, entre las plantas con cera y sin cera. En ambos grupos se pudo apreciar la acumulación nocturna de ácidos orgánicos que identifica este comportamiento metabólico.

En el mes de Mayo la acumulación de ácidos orgánicos tuvo diferencias significativas, lo que indicó una mayor acumulación en las plantas sin cera (fig. 53).

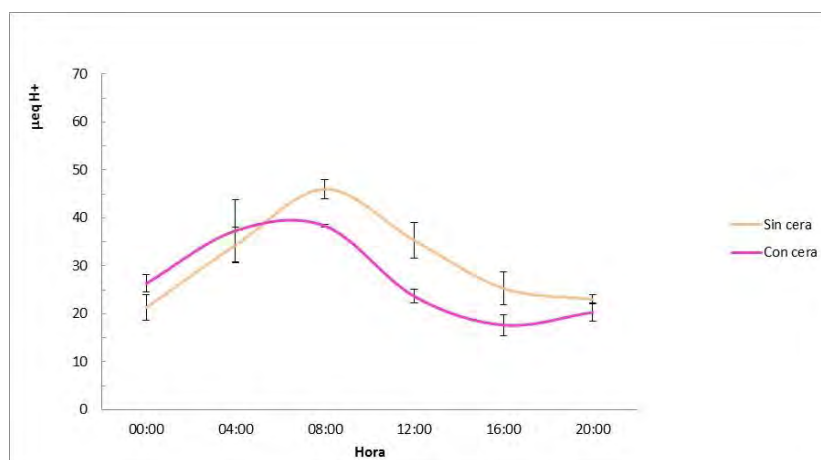


Figura 53. Acumulación de ácidos orgánicos en *Echeveria laui* del mes de Mayo. El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre plantas con cera y plantas sin cera. Las barras representan \pm error estándar, $n=3$. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$. Año: 2010. Sitio: Vivero Intensidad Baja.

En los meses de Septiembre, Diciembre y Marzo la acumulación de ácidos orgánicos tuvo diferencias significativas que indicaron que había una mayor acumulación en las plantas con cera, (fig. 54) lo cual es el resultado opuesto al mes de Mayo.

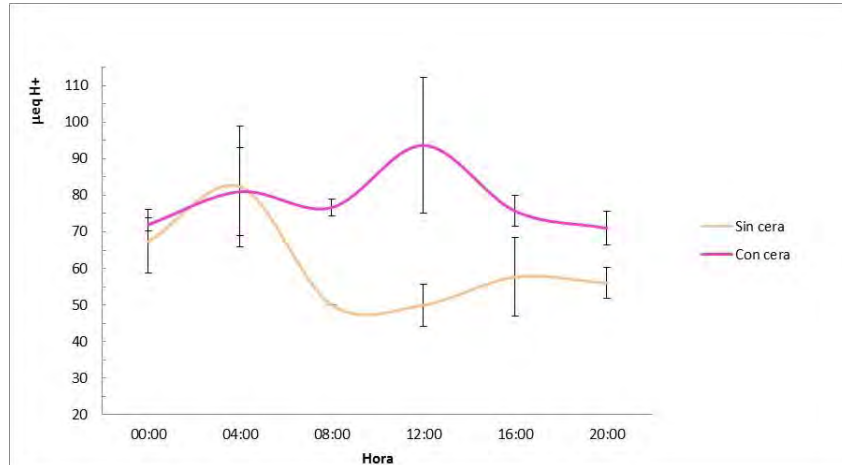


Figura 54. Acumulación de ácidos orgánicos en *Echeveria laui* del mes de Diciembre (2010). El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre plantas con cera y plantas sin cera. En el mes de Septiembre (2010) y Marzo (2011) se encontró un comportamiento y diferencias similares. Las barras representan \pm error estándar, n=3. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$. Sitio: Vivero Intensidad Baja.

En la dinámica estomática se encontró el patrón inverso de apertura estomática típica del metabolismo MAC, sin embargo no se encontraron diferencias significativas en ningún mes entre las plantas con cera y sin cera.

Temperatura de la hoja.

Al medir la temperatura de las hojas entre ambas plantas (con cera y sin cera) solamente se registraron diferencias significativas durante el mes de Agosto (fig. 55) cuando las hojas sin cera presentaron una mayor temperatura.

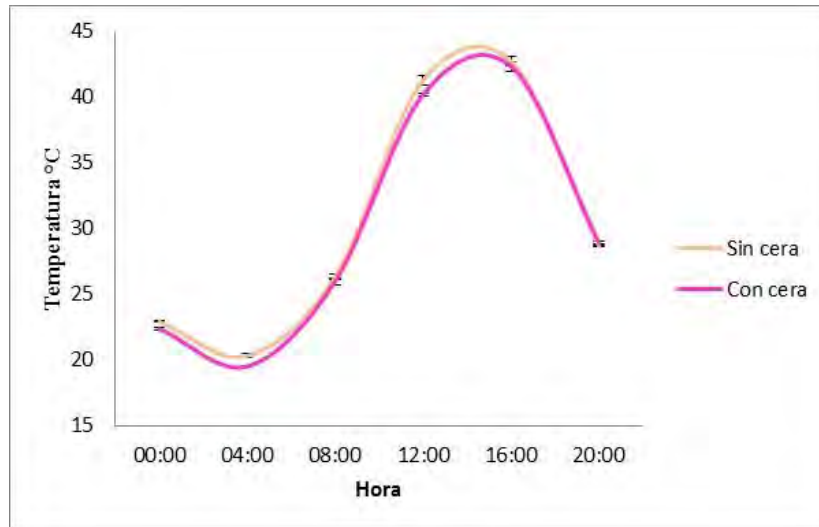


Figura 55. Temperatura de las hojas de *Echeveria laui* del mes de Agosto. Las barras representan \pm error estándar, $n=3$. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$. Año 2010. Sitio: Vivero Intensidad Baja.

Cuantificación de Clorofilas.

Clorofila a. El análisis indicó diferencias significativas en este pigmento en el mes de Abril, encontrando que en las plantas sin cera hubo una mayor cantidad de clorofila a (fig. 56).

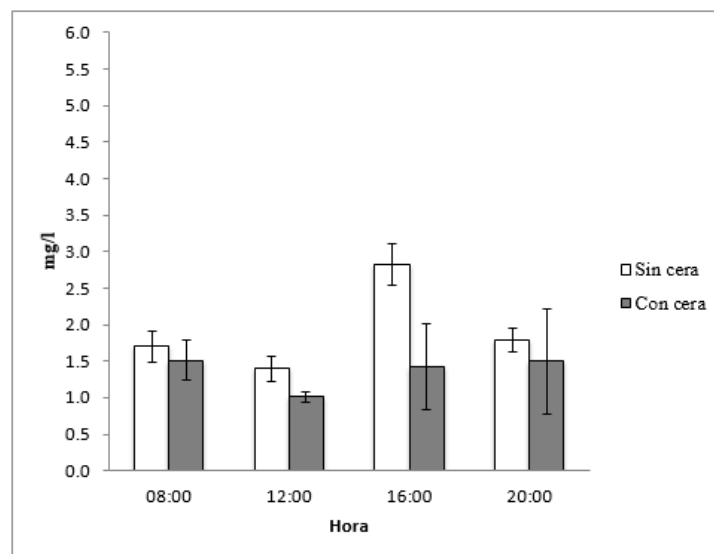


Figura 56. Concentración de clorofila a en *Echeveria laui* del mes de Abril. Las barras representan \pm error estándar, $n=3$. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$. Año 2011. Sitio: Vivero Intensidad Alta.

Clorofila b. El análisis indicó diferencias significativas en el mes de Septiembre, lo que se interpretó como una mayor cantidad de clorofila b en las plantas sin cera (fig. 57).

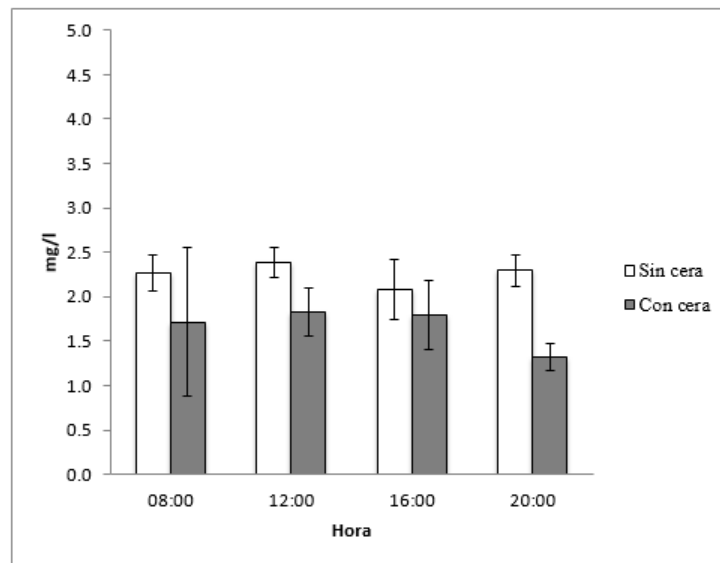


Figura 57. Concentración de clorofila b en *Echeveria laui* del mes de Septiembre. Las barras representan \pm error estándar, n=3. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$. Año 2011. Sitio: Vivero Intensidad Alta.

Clorofilas totales y Relación clorofila a/b. El análisis estadístico no indicó diferencias significativas.

Perfil de pigmentos.

Los cromatogramas de los pigmentos de las plantas con cera y sin cera, se obtuvieron al finalizar los 12 meses de experimentación, debido a una diferencia de coloración (tonalidad rojiza) que se presentó en algunas plantas, entre las diferentes condiciones ambientales.

En el cromatograma de las plantas con cera y sin cera (fig. 58), se presentaron los pigmentos fotosintéticos como la clorofila a, b (fig. 39 y 40), que se obtuvieron en las plantas que estuvieron bajo la condición ambiental VIB.

En la condición ambiental VIA, en las plantas con cera se presentó el pigmento violaxantina (fig. 59), mientras que en las plantas sin cera hubo otros pigmentos, tales como α -caroteno (fig. 60), β -caroteno (fig. 61) y zeaxantina (fig. 62).

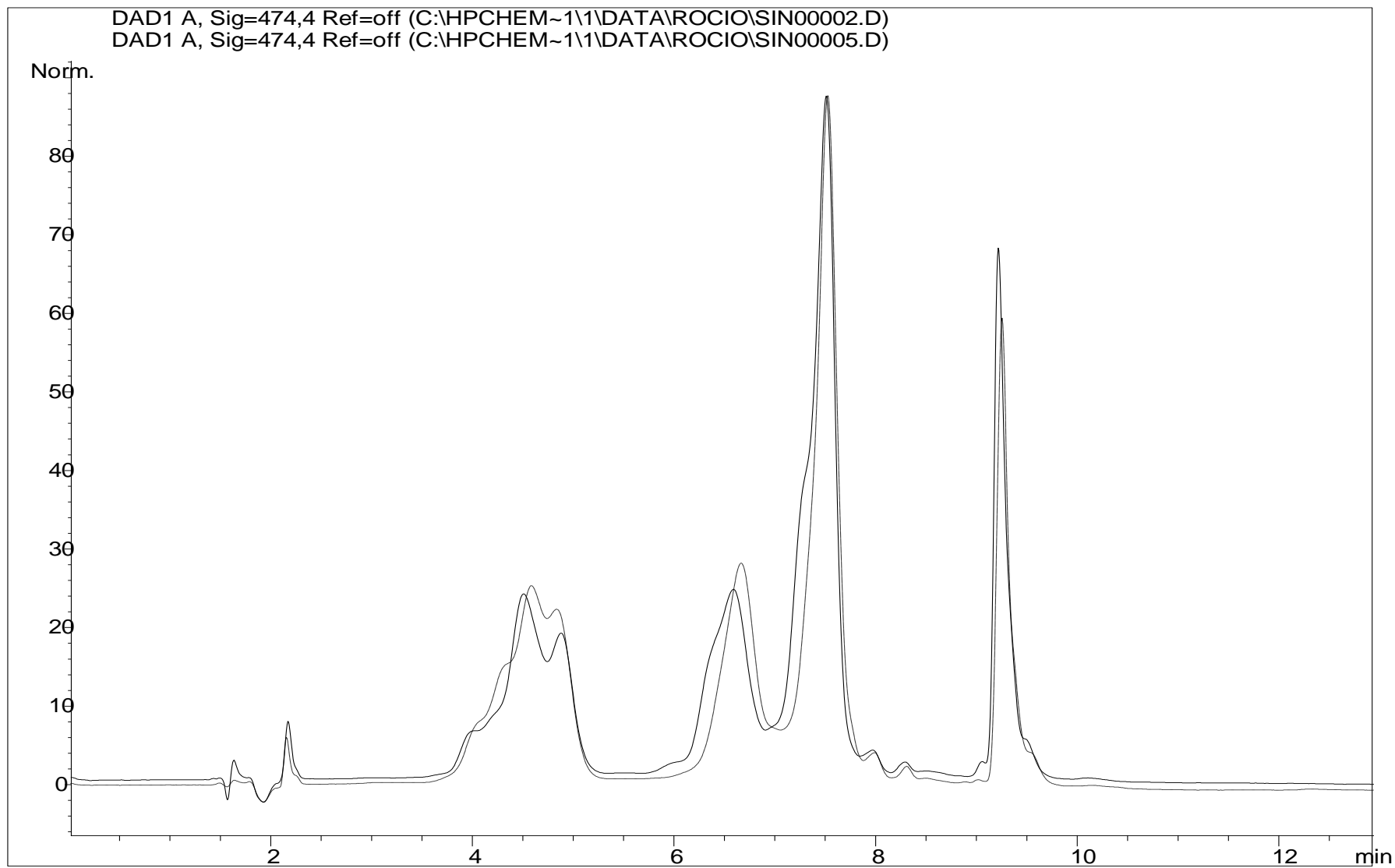


Figura 58. Perfil de pigmentos en HPLC de plantas con cera y sin cera de *Echeveria laui*. A: Tiempo de retención para la violaxantina. B: Tiempo de retención para el α -caroteno.
 C: Tiempo de retención para el β -caroteno. D: Tiempo de retención para la zeaxantina. Perfil obtenido al final del experimento (Mayo 2010- Abril 2011).
 Sitio Vivero Intensidad Alta.

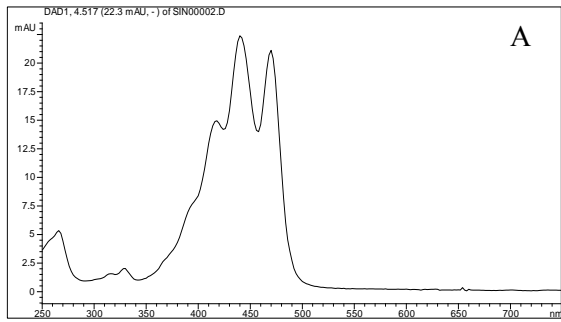


Figura 59. Espectro de absorción de la violaxantina.

Abs = 418, 440, 470.

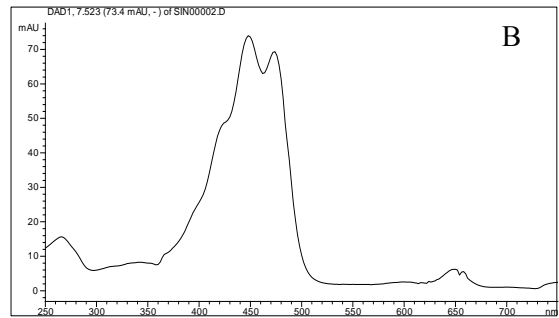


Figura 60. Espectro de absorción del α -caroteno.

Abs = 422, 448, 472.

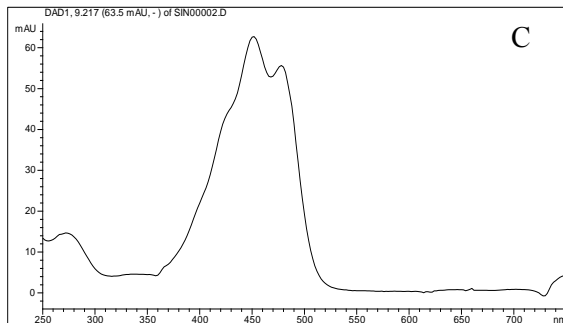


Figura 61. Espectro de absorción del β -caroteno.

Abs = 428, 450, 470.

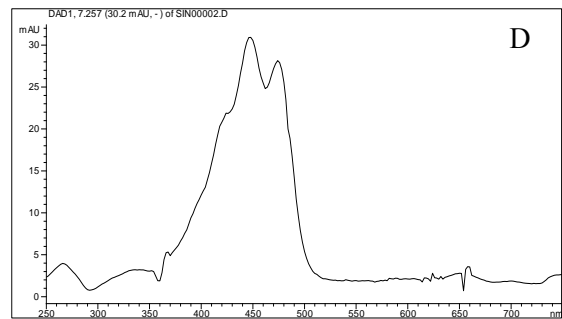


Figura 62. Espectro de absorción de la zeaxantina.

Abs = 424, 448, 474.

Invernadero (INV).

Durante un año se midió mensualmente la temperatura, humedad relativa e irradiación de lumínica (fig. 63). Dichos valores se promediaron (Mayo 2010-Abril 2011) para observar su comportamiento a lo largo de un año, de modo que podemos observar los meses con condiciones de elevada temperatura y baja humedad relativa y viceversa.

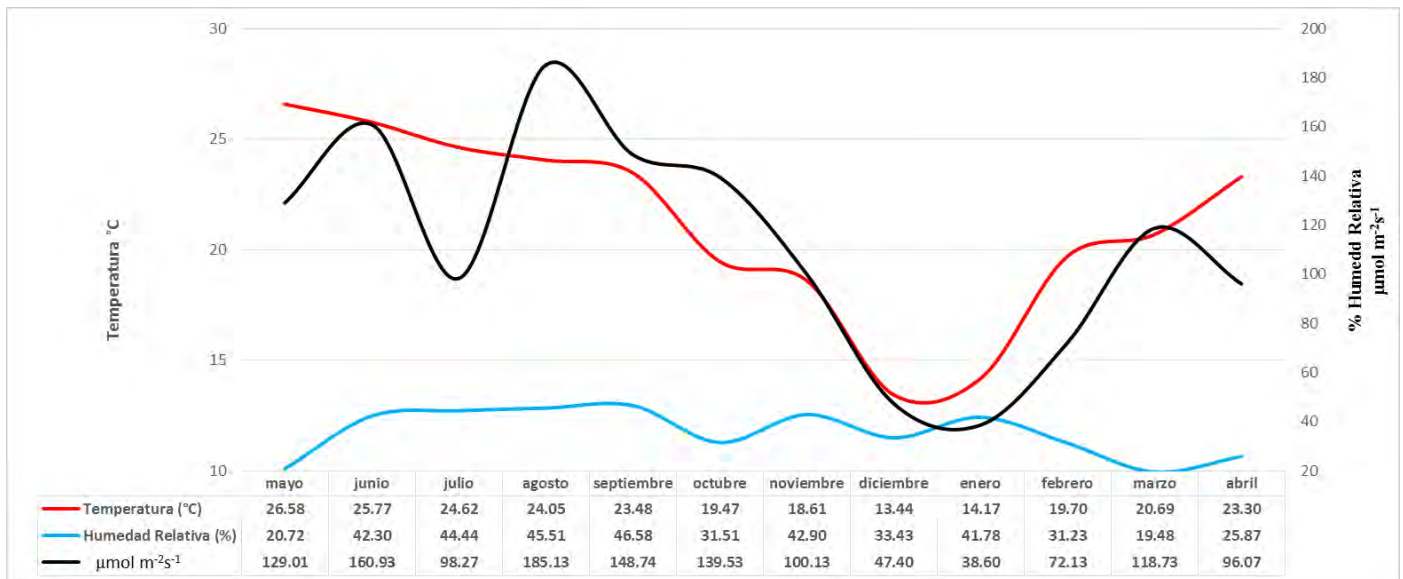


Figura 63. Temperatura, Humedad Relativa e Irradiación lumínica en el Invernadero (INV). Periodo Mayo 2010-Abril 2011

Cuantificación de la fotosíntesis mediante la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila a.

A continuación se presentan los resultados de la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila a, en base al análisis OJIP. Este análisis se hizo basándose principalmente en dos horarios, mañana (08:00 hrs) y tarde (20:00 hrs) ya que el POCKET PEA pudo registrar siempre las lecturas en esos horarios. Una vez analizados los datos, se agruparon los meses que presentaron comportamientos similares.

La curva OJIP obtenida por la fluorescencia de la clorofila *a*, para los meses de Junio, Agosto, Noviembre y Diciembre presentó en las plantas sin cera una inhibición en la reducción parcial de Q_A (fase J) y en la reducción parcial de Q_{A-} y Q_B (fase I). Entre las plantas sin cera y con cera la fase P se inhibió ligeramente y a veces se comportó de manera similar entre ambos tratamientos (fig. 64).

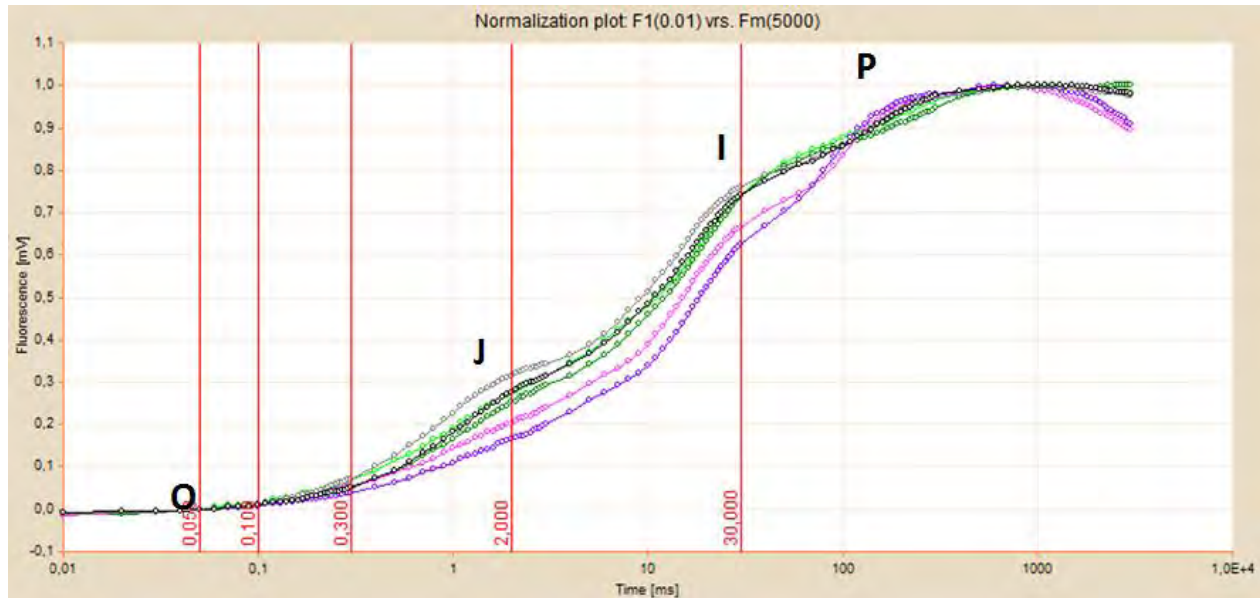


Figura 64. Análisis OJIP. Valores promedio de la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila *a* del FSII (normalizadas) en hojas de *Echeveria laui*. Curvas verdes corresponden a las 08:00 hrs, curvas rosas corresponden a las 16:00 hrs, curvas negras corresponden a las 20:00 hrs. Plantas con cera representadas por colores oscuros y plantas sin cera representadas por colores claros. Meses: Junio, Agosto, Noviembre y Diciembre (2010). Sitio: Invernadero.

En los modelos de flujo de hoja, se apreció que en ambos tratamientos existió un buen acarreo de energía en la cadena transportadora de electrones, sin embargo, los valores de ABS/CS_o , TR_o/CS_o , ET_o/CS_o y DI/CS_o fueron más elevados en las plantas sin cera. En los horarios matutinos hubo centros de reacción apagados, los cuales aumentaron en las plantas con cera en el horario de las 16:00 hrs. Después en la siguiente medición (a las 20:00 hrs) en ambos tratamientos, la mayoría de los centros de reacción estuvieron encendidos (fig. 65).

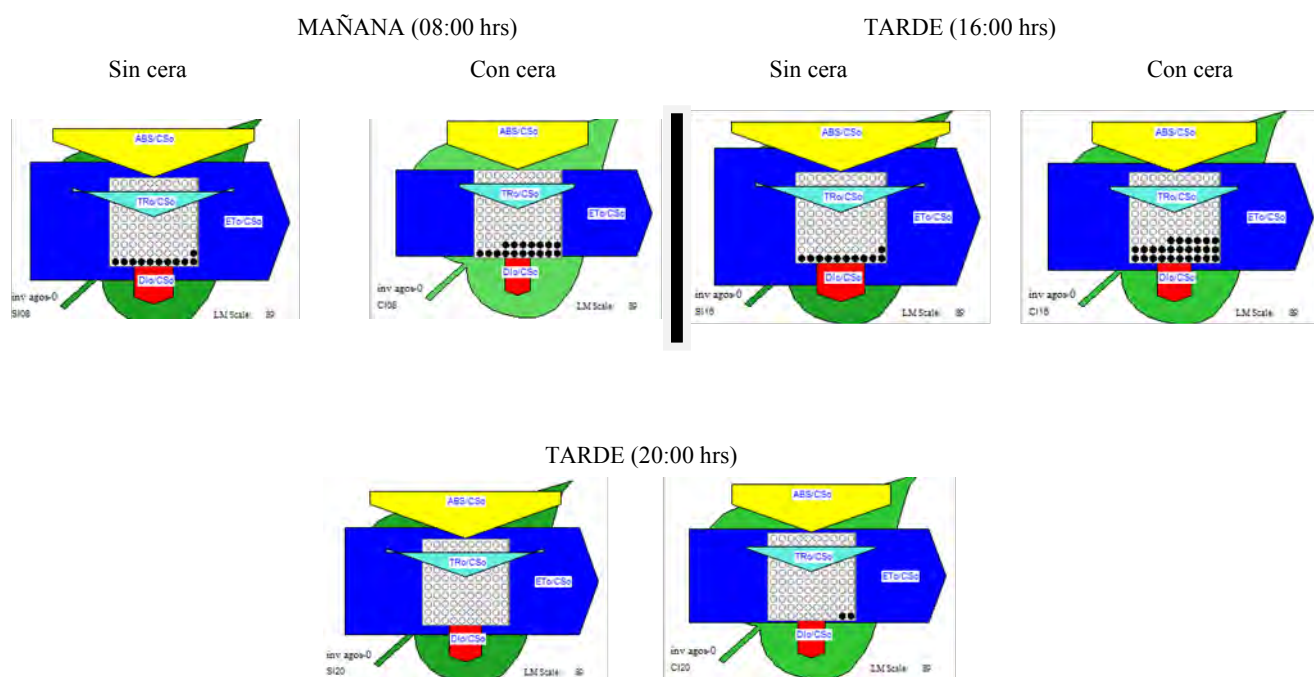


Figura 65. Modelos de hoja para el flujo de energía (absorción, captura de excitones, disipación y transporte de electrones) por sección transversal de hojas de *Echeveria laui*. El ancho de cada flecha corresponde a la intensidad del flujo de energía. Los puntos negros representan la cantidad de centros de reacción inactivos. Meses: Junio, Agosto, Noviembre y Diciembre (2010). Sitio: Invernadero.

En los gráficos radiales (fig.66) de los parámetros de la teoría de flujo de energía en biomembranas, en las plantas sin cera hubo valores ligeramente menores en la fotoquímica primaria (ϕ_{P_0}). Esta diferencia se acentuó en las plantas sin cera en los parámetros de ψ_0 , ϕ_{E_0} y PI_{abs} siendo menores que en las plantas control. Los valores de ABS/CS₀, TRo/CS₀, ET/CS₀, DI/CS₀ y Fo fueron mayores para las plantas sin cera.

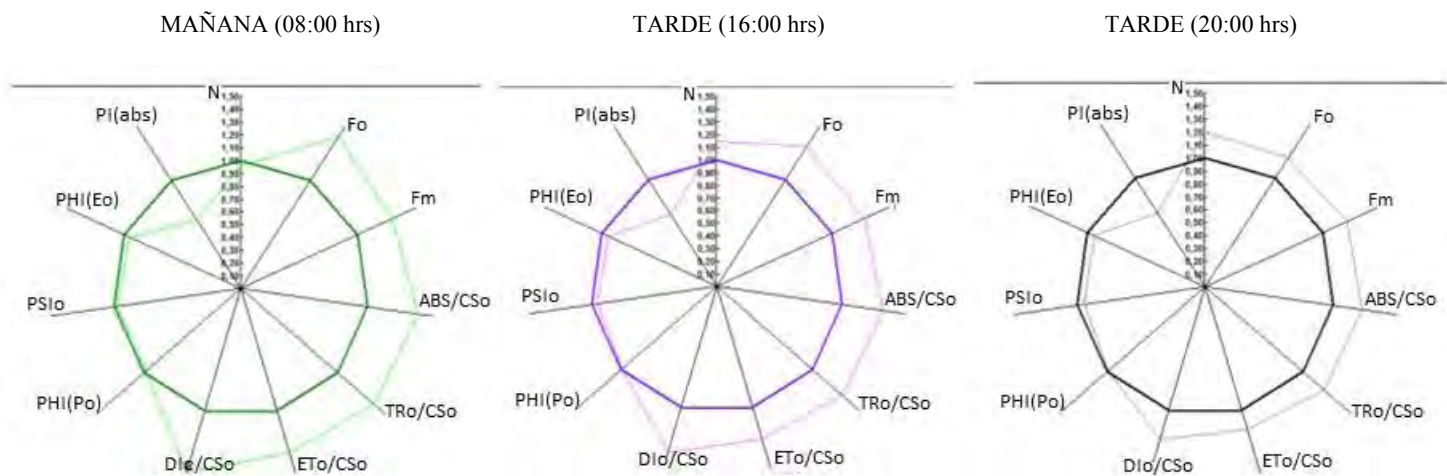


Figura 66. Gráficas radiales muestran todos los parámetros calculados. Las plantas con cera en colores oscuros, al centro y las plantas sin cera en colores claros. Parámetros graficados: Fo, Fm, ABS/CSo, TRo/CSo, ETo/CSo, DIo/CSo, ϕ_{Po} (PHIPo), ψ_o (PSIo), ϕ_{Eo} (PHIEo), PI_{abs} , N. Meses: Junio, Agosto, Noviembre y Diciembre (2010). Sitio: Invernadero.

En los meses de Junio y Agosto se presentó constante la humedad relativa, una irradiación lumínica y temperatura elevadas. Los meses de Noviembre y Diciembre tuvieron una humedad relativa elevada y una baja temperatura e irradiación lumínica (cuadro 13).

Cuadro 13. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica. Año 2010. Sitio: Invernadero.

HR	JUNIO			AGOSTO		
	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
00:00	19.8	69.3	0.0	19.0	74.6	0.0
04:00	17.8	72.6	0.0	17.8	78.4	0.0
08:00	19.9	70.0	20.2	17.9	75.4	14.0
12:00	36.5	30.7	286.0	33.7	30.3	392.0
16:00	36.9	22.4	176.6	33.4	22.7	149.4
20:00	23.7	46.1	6.2	22.5	53.7	1.0

HR	NOVIEMBRE			DICIEMBRE		
	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
00:00	14.8	57.6	0.0	10.7	41.9	0.0
04:00	14.7	61.6	0.0	7.9	50.0	0.0
08:00	14.2	65.1	4.8	5.9	52.8	4.6
12:00	20.9	41.6	255.4	16.6	32.3	93.6
16:00	27.3	24.7	40.2	24.7	15.0	44.0
20:00	19.8	40.3	0.0	14.9	33.6	1.0

La curva OJIP obtenida por la fluorescencia de la clorofila *a*, para el mes de Mayo, presentó en las plantas sin cera una inhibición en la reducción parcial de Q_A (fase J), en la reducción de reducción de la plastoquinona (fase P). Pero en la reducción parcial de Q_A - y Q_B (fase I) hubo valores semejantes entre ambos tratamientos (fig. 67).

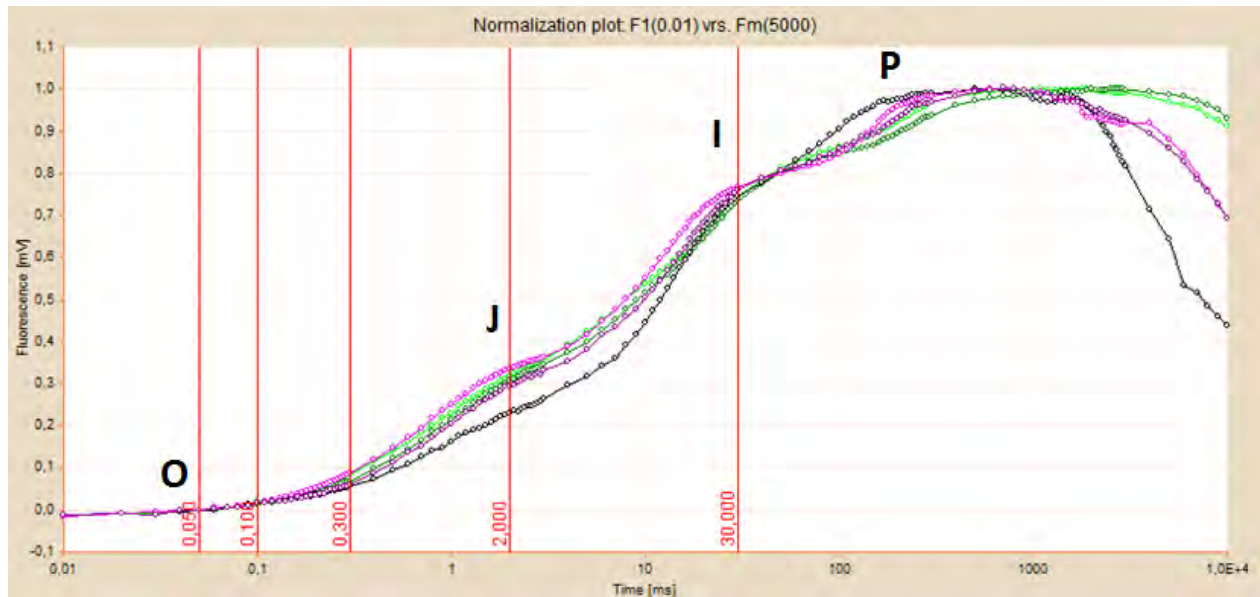


Figura 67. Análisis OJIP Valores promedio de la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila *a* del FSII (normalizadas) en hojas de *Echeveria laui*. Curvas verdes corresponden a las 08:00 hrs, curvas rosas corresponden a las 20:00 hrs. La curvas negra corresponden a plantas con cera de las 16:00 hrs. Plantas con cera representadas por colores oscuros y plantas sin cera representadas por colores claros. Mes: Mayo (2010). Sitio: Invernadero.

En los modelos de flujo de hoja, se observó que en ambos tratamientos más del 50% de centros de reacción estuvieron apagados y hubo poco flujo de energía. Conforme avanzó el día, en las plantas sin cera no se mejoró el transporte, en cambio, en las plantas con cera aumentó el flujo de energía, el flujo de energía absorbido (ABS/CSo), el flujo atrapado (TRo/CSo), y el flujo de transporte electrónico (ETo/CSo), además de que los centros de reacción se encendieron (fig. 68).

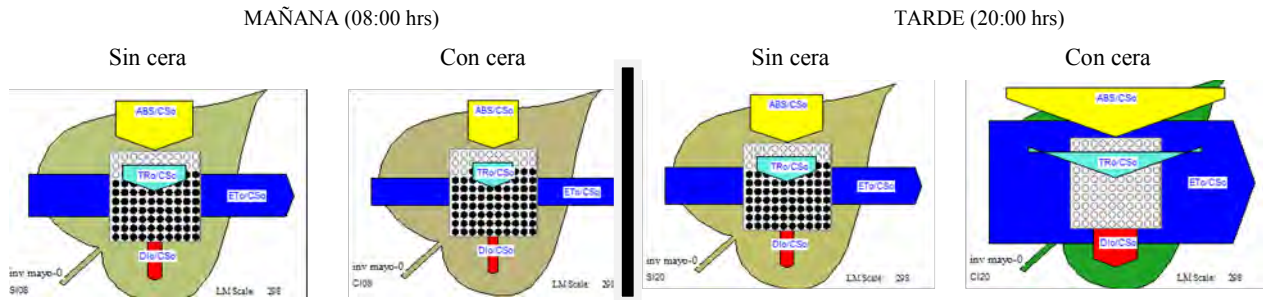


Figura 68. Modelos de hoja para el flujo de energía (absorción, captura de excitones, disipación y transporte de electrones) por sección transversal de hojas de *Echeveria laui*. El ancho de cada flecha corresponde a la intensidad del flujo de energía. Los puntos negros representan la cantidad de centros de reacción inactivos. Mes: Mayo (2010). Sitio: Invernadero.

Los parámetros de la teoría de flujo de energía en biomembranas (fig. 69) en las gráficas radiales mostraron que en entre ambos tratamientos la fotoquímica primaria (ϕ_{PO}) fue similar, pero los valores de ψ_o , ϕ_{Eo} y PI_{abs} , fueron mayores en las plantas con cera (control) en la tarde y en la mañana.

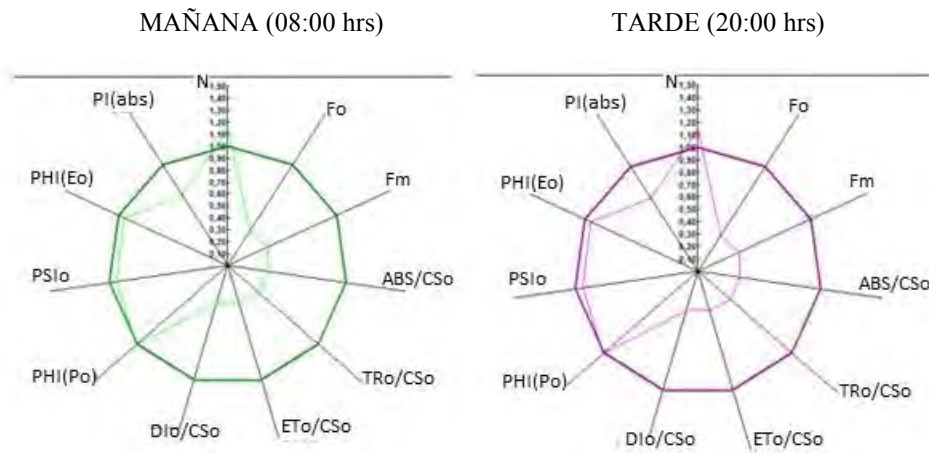


Figura 69. Gráficas radiales muestran todos los parámetros calculados. Las plantas con cera en colores oscuros, al centro y las plantas sin cera en colores claros. Parámetros graficados: Fo, Fm, ABS/CSo, TRo/CSo, ETa/CSo, DI/CSo, ϕ_{Po} (PHIPo), ψ_o (PSIo), ϕ_{Eo} (PHIEo), PI_{abs} , N. Mes: Mayo (2010). Sitio: Invernadero.

El mes de mayo fue el que presentó la humedad relativa más baja y temperatura más elevada (cuadro 14), con una irradiación luminosa elevada, por lo que este mes se pudo considerar como el que presentó condiciones desfavorables para las plantas sin cera, lo que se evidenció con la inhibición del transporte de electrones.

Cuadro 14. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica. Año 2010. Sitio: Invernadero.

HR	MAYO		
	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
00:00	20.8	33.7	0.0
04:00	17.5	41.3	0.0
08:00	16.9	32.9	5.7
12:00	39.5	14.8	296.4
16:00	38.5	11.0	85.0
20:00	26.3	24.2	0.5

La curva obtenida por la fluorescencia de la clorofila *a*, para los meses de Julio y Octubre se registró en las plantas sin cera una inhibición en la fase J (reducción parcial de Q_A), sin embargo, en las fases I y P (reducción parcial de Q_A^- hasta plastoquinona) se obtuvieron valores similares entre ambos tratamientos (fig. 70).

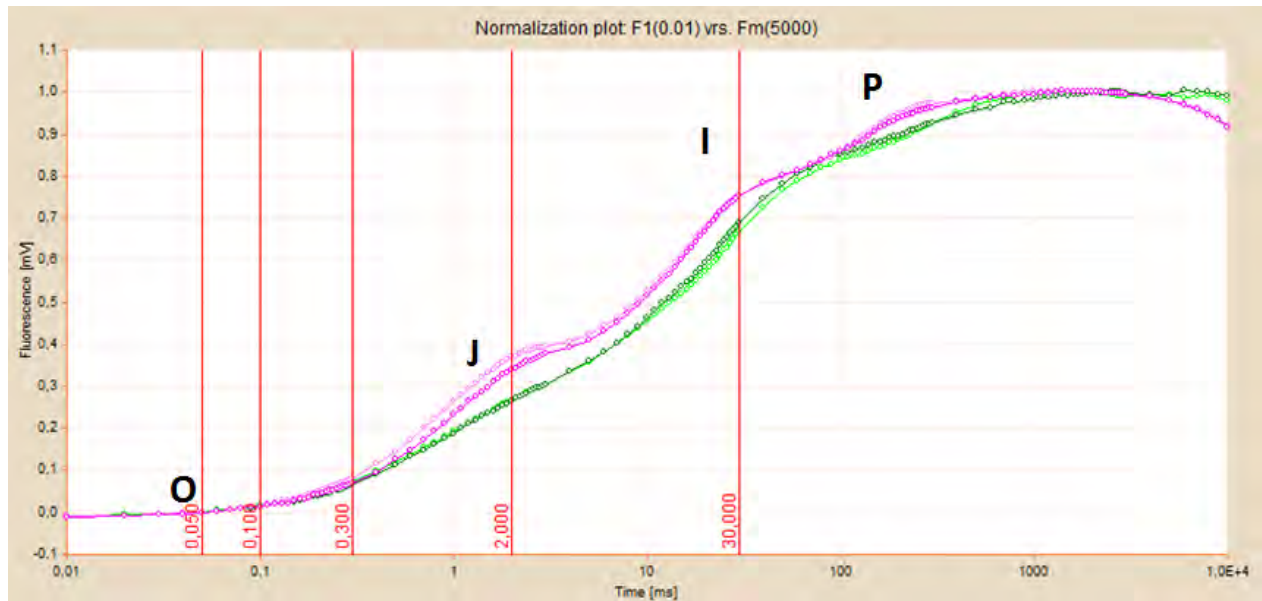


Figura 70. Análisis OJIP. Valores promedio de la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila a del FSII (normalizadas) en hojas de *Echeveria laui*. Curvas verdes corresponden a horario matutino, curvas rosas corresponden a horario vespertino. Plantas con cera representadas por colores oscuros y plantas sin cera representadas por colores claros. Meses: Julio y Octubre (2010). Sitio: Invernadero.

El modelo de flujo de hoja (fig. 71) mostró que en las plantas sin cera los valores de ABS/CS_o, TRo/CS_o, ETo/CS_o y DI/CS_o fueron ligeramente mayores en la mañana. Ambos tratamientos presentaron centros de reacción apagados, los cuales se encendieron conforme avanzó el día sin que esto trajera una diferencia entre el flujo de la energía en las plantas de *Echeveria laui*.

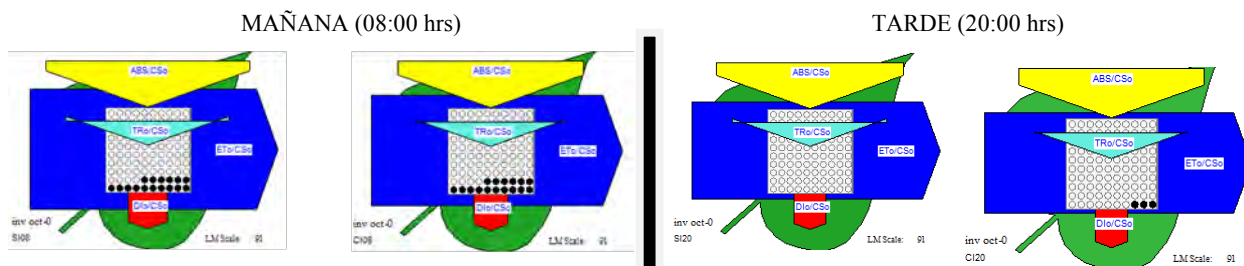


Figura 71. Modelos de hoja para el flujo de energía (absorción, captura de excitones, disipación y transporte de electrones) por sección transversal de hojas de *Echeveria laui*. El ancho de cada flecha corresponde a la intensidad del flujo de energía. Los puntos negros representan la cantidad de centros de reacción inactivos. Meses: Julio y Octubre (2010). Sitio: Invernadero.

Con respecto a los parámetros de la teoría de flujo de energía en biomembranas, los valores de φ_{Po} , ψ_o , φ_{Eo} fueron iguales entre ambos tratamientos y en las plantas sin cera el PI (abs) fue menor en la mañana. Posteriormente al avanzar el día, en las plantas sin cera todos los valores fueron menores (fig. 72).

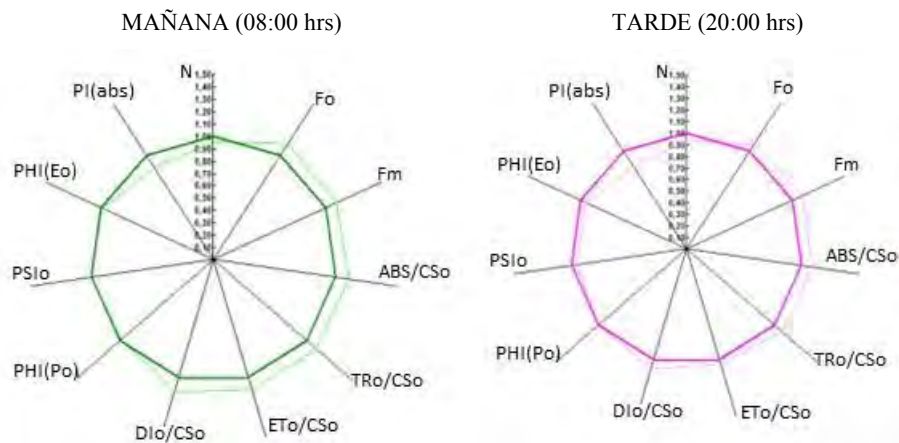


Figura 72. Gráficas radiales muestran todos los parámetros calculados. Las plantas con cera en colores oscuros, al centro y las plantas sin cera en colores claros. Parámetros graficados: Fo, Fm, ABS/CSO, TRo/CSO, ETo/CSO, DI/CSO, φ_{Po} (PHIPo), ψ_o (PSIo), φ_{Eo} (PHIEo), PIabs, N. Meses: Julio y Octubre (2010). Sitio: Invernadero.

En el mes de Julio hubo elevada temperatura y humedad relativa, mientras que la irradiación lumínica fue baja. En octubre la humedad relativa y temperatura disminuyeron mientras que la irradiación lumínica se elevó (cuadro 15).

Cuadro 15. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica. Año 2010. Sitio: Invernadero.

HR	JULIO			OCTUBRE		
	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
00:00	19.3	72.8	0.0	14.8	49.5	0.0
04:00	17.8	76.5	0.0	12.2	58.5	0.0
08:00	18.6	73.6	13.4	10.6	64.6	5.0
12:00	34.6	30.4	211.6	28.4	15.0	265.0
16:00	34.6	22.6	69.8	31.9	17.0	148.6
20:00	22.9	51.1	2.0	19.0	29.5	0.0

La curva OJIP obtenida por la fluorescencia de la clorofila **a**, para los meses de Enero, Febrero y Abril, mostró que en las plantas sin cera existió una estimulación en la cadena transportadora de electrones tanto en las fases J, I y P en la mañana. Dicha estimulación se perdió conforme avanzó el día, mostrando inhibición en dichas fases como se observa en la figura 73.

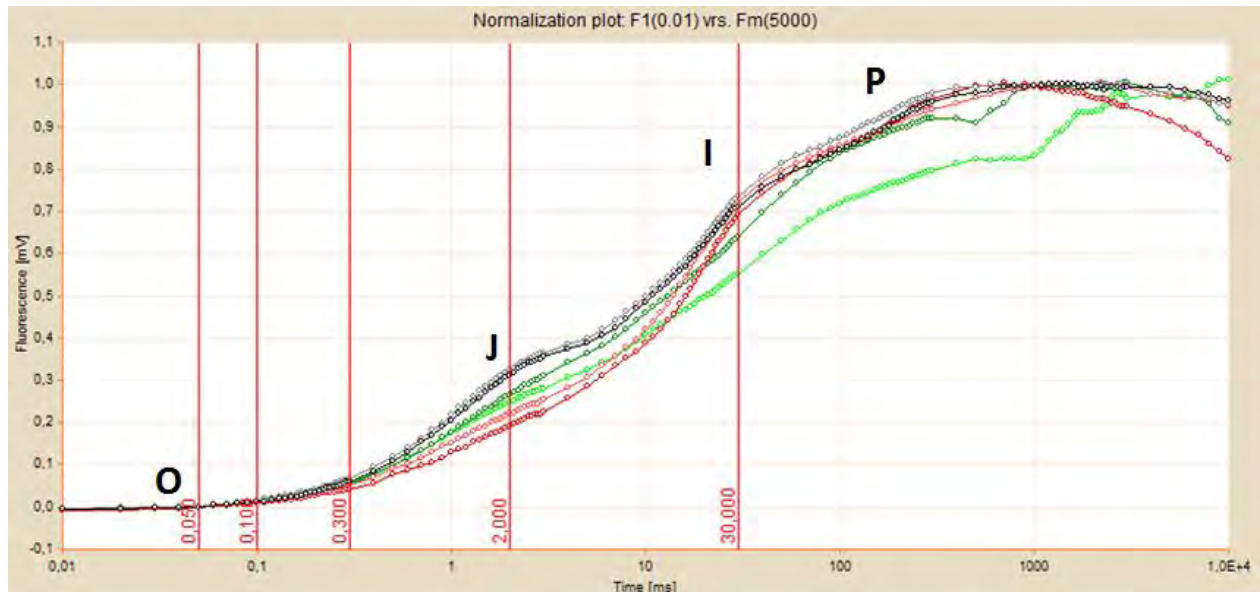


Figura 73. Análisis OJIP. Valores promedio de la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila **a** del FSII (normalizadas) en hojas de *Echeveria laui*. Curvas verdes corresponden a las 08:00 hrs, curvas rojas corresponden a las 16:00 hrs y curvas negras corresponden a las 20:00 hrs. Plantas con cera representadas por colores oscuros y plantas sin cera representadas por colores claros. Meses: Enero, Febrero y Abril (2011). Sitio: Invernadero.

En los modelos de flujo de hoja (fig. 74), se apreció que entre las plantas con cera y sin cera hubo valores parecidos entre el flujo absorbido (ABS/CS_o), el flujo atrapado (TR_o/CS_o), flujo de transporte electrónico (ET_o/CS_o). En las plantas sin cera hubo mayor cantidad de centros de reacción apagados en la mañana pero en la tarde todos se encendieron en ambos tratamientos.

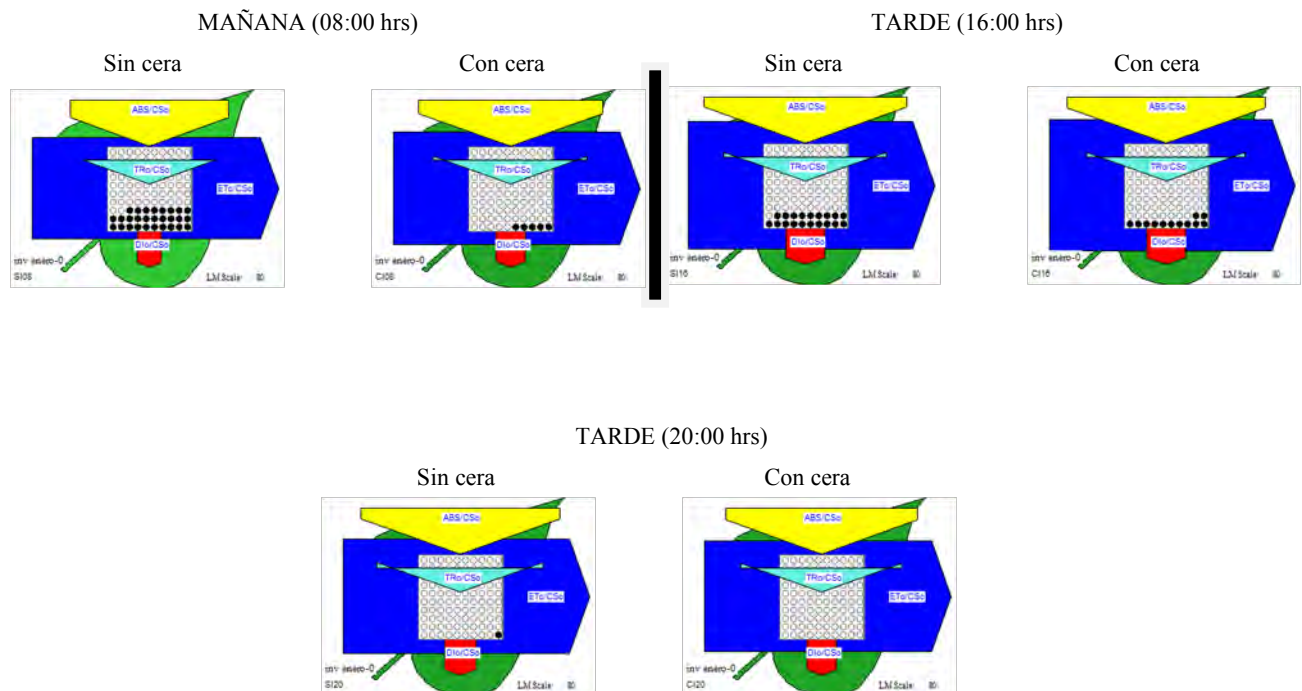


Figura 74. Modelos de hoja para el flujo de energía (absorción, captura de excitones, disipación y transporte de electrones) por sección transversal de hojas de *Echeveria laui*. El ancho de cada flecha corresponde a la intensidad del flujo de energía. Los puntos negros representan la cantidad de centros de reacción inactivos. Meses: Enero, Febrero y Abril (2011). Sitio: Invernadero.

En los gráficos radiales de los parámetros de la teoría de flujo de energía en biomembranas, se observó que en las plantas sin cera los valores de la fotoquímica primaria (ϕ_{P_0}) fueron similares a los de las plantas con cera durante todo el día mientras que el valor de ψ_0 y $PI_{(abs)}$ fue ligeramente mayor en la mañana. En lo que respecta a las plantas con cera, el valor de ϕ_{E_0} fue ligeramente mayor y el índice de funcionamiento (PI_{abs}) fue mayor en la tarde (fig. 75).

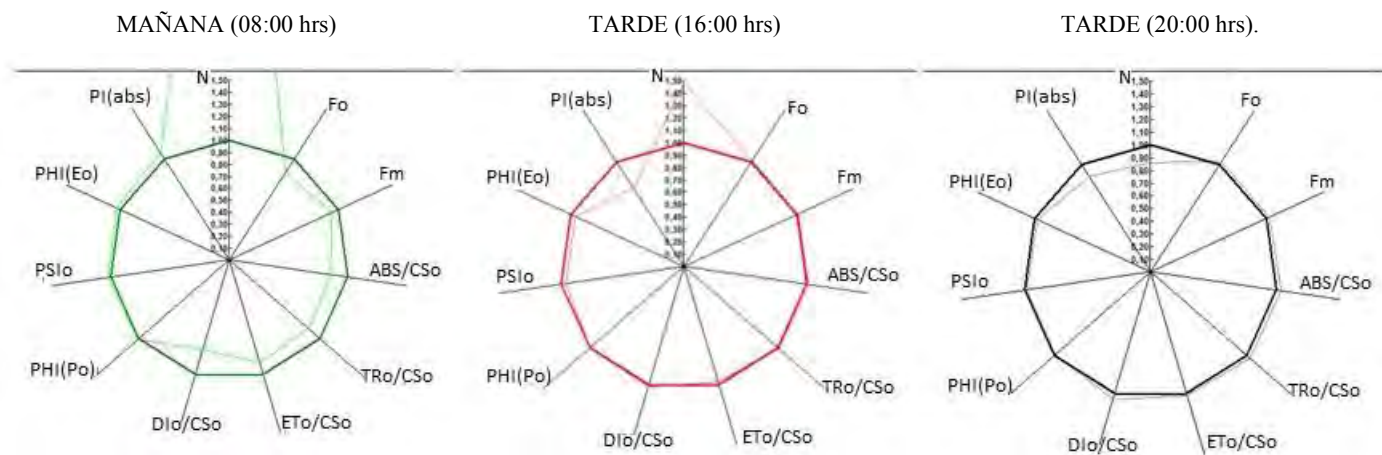


Figura 75. Gráficas radiales muestran todos los parámetros calculados. Las plantas con cera en colores oscuros, al centro y las plantas sin cera en colores claros. Parámetros graficados: Fo, Fm, ABS/CSO, TRo/CSO, ETa/CSO, DI/CSO, ϕ_{Po} (PHIPo), ψ_o (PSIo), ϕ_{Eo} (PHIEo), PI_{abs} , N. Meses: Enero, Febrero y Abril (2011). Sitio: Invernadero.

En los meses de Enero, Febrero y Abril, los parámetros ambientales registrados (cuadro 16) mostraron que en estos meses hubo poca irradiación lumínica, bajas temperaturas (ambos parámetros tendieron a incrementarse) y que la humedad relativa en Enero era alta, descendiendo conforme avanzaban los meses.

Cuadro 16. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica. Año 2011. Sitio: Invernadero.

HR	ENERO			FEBRERO			ABRIL		
	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
00:00	10.2	56.9	0.0	16.9	37.3	0.0	19.4	36.4	0.0
04:00	8.9	62.0	0.0	14.1	49.0	0.0	15.8	42.1	0.0
08:00	7.6	67.1	3.2	11.6	52.2	1.0	14.8	45.2	5.2
12:00	17.2	40.2	78.2	22.4	33.9	123.4	34.5	19.9	239.2
16:00	26.2	18.5	34.4	31.5	15.0	92.0	31.6	16.1	43.8
20:00	15.0	41.4	1.0	21.7	23.8	1.0	23.7	22.3	1.0

La curva OJIP obtenida por la fluorescencia de la clorofila *a*, para el mes de Marzo, se presentó en las plantas sin cera una estimulación en las fases J, I y P en la mañana, sin embargo, en la tarde la fase J presentó una ligera inhibición. En las plantas con cera y sin cera las fases I y P se comportan de manera similar en la tarde (fig. 76).

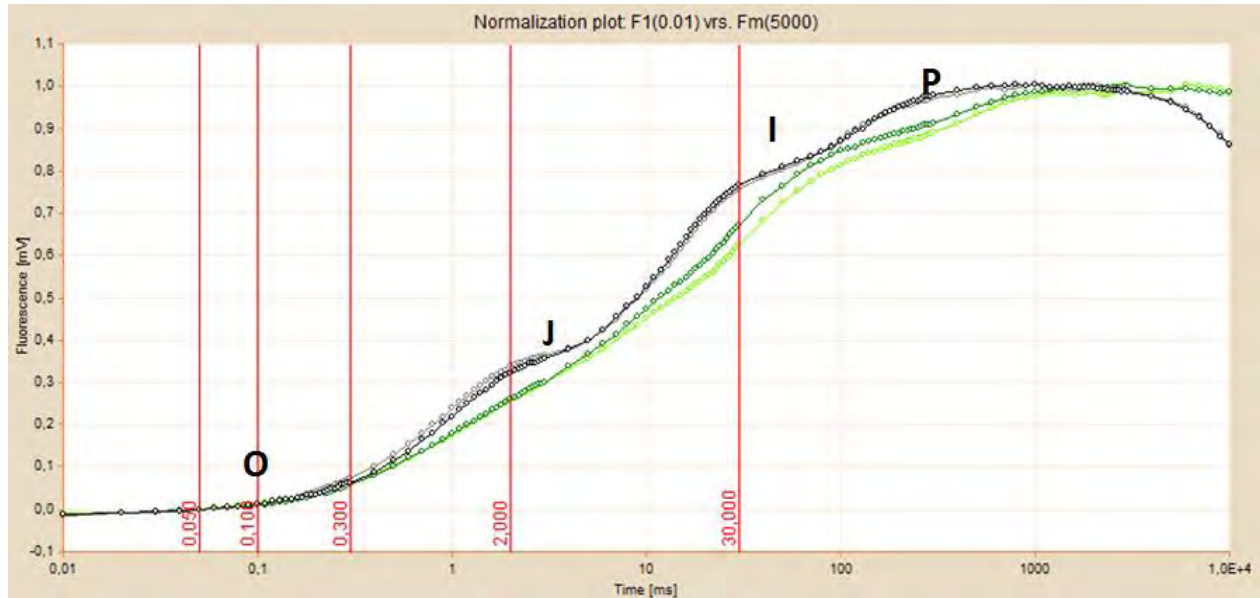


Figura 76. Análisis OJIP. Valores promedio de la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila *a* del FSII (normalizadas) en hojas de *Echeveria laui*. Curvas verdes corresponden a horario matutino, curvas negras corresponden a horario vespertino. Plantas con cera representadas por colores oscuros y plantas sin cera representadas por colores claros. Mes: Marzo (2011). Sitio: Invernadero.

Los modelos de flujo de hoja (fig. 77) mostraron que en las plantas sin cera hubo valores ligeramente mayores entre ABS/CS_o , TR_o/CS_o , ET_o/CS_o y DI/CS_o en la mañana. Al atardecer estos parámetros se incrementaron y los centros de reacción se encendieron. En las plantas con cera disminuyó el transporte conforme avanzó el día y no hubo cambio en los centros de reacción.

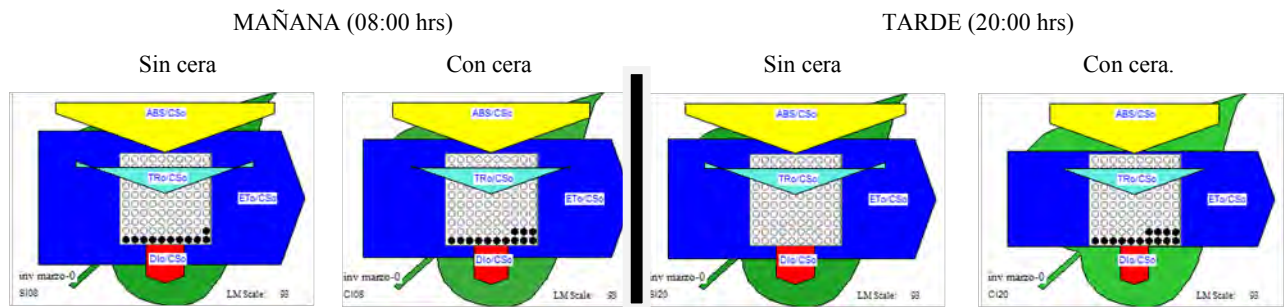


Figura 77. Modelos de hoja para el flujo de energía (absorción, captura de excitones, disipación y transporte de electrones) por sección transversal de hojas de *Echeveria laui*. El ancho de cada flecha corresponde a la intensidad del flujo de energía. Los puntos negros representan la cantidad de centros de reacción inactivos. Mes: Marzo (2011). Sitio: Invernadero.

Los parámetros de la teoría de flujo de energía en biomembranas (fig. 78) en las gráficas radiales mostraron que en las plantas con cera y sin cera los valores de ϕ_{Po} , ψ_o , ϕ_{Eo} y PI_{abs} fueron similares en la mañana. Por la tarde, en las plantas sin cera los valores de ϕ_{Po} , ψ_o , ϕ_{Eo} fueron ligeramente menores y el PI_{abs} fue menor.

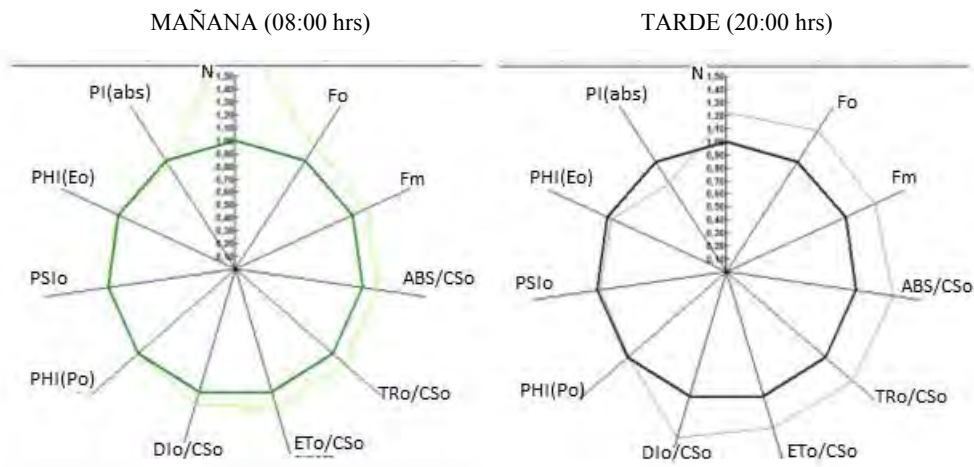


Figura 78. Gráficas radiales muestran todos los parámetros calculados. Las plantas con cera en colores oscuros, al centro y las plantas sin cera en colores claros. Parámetros graficados: F_o , F_m , ABS/CS_o , TR_o/CS_o , ET_o/CS_o , DI/CS_o , ϕ_{Po} ($PHIPo$), ψ_o ($PSIo$), ϕ_{Eo} ($PHIEo$), PI_{abs} , N . Mes: Marzo (2011). Sitio: Invernadero.

En Marzo la irradiación lumínica y temperatura aumentaron, mientras que la humedad relativa descendió (con respecto a Febrero) (cuadro 17).

Cuadro 17. Temperatura, humedad relativa e irradiación lumínica. Año 2011. Sitio: Invernadero.

HR	MARZO		
	°C	%HR	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
00:00	16.8	22.9	0.0
04:00	13.1	29.6	0.0
08:00	10.4	33.0	1.6
12:00	26.7	15.0	216.6
16:00	34.4	15.0	138.0
20:00	22.8	15.0	1.0

Resumiendo los comportamientos observados en el análisis OJIP mediante la fluorescencia de la clorofila a, en los meses donde la temperatura fue baja y la humedad relativa alta, en las plantas sin cera los valores de la fotoquímica primaria (ϕ_{P_0}), la eficiencia con la que un excitón atrapado puede mover un electrón más allá de Q_A^- en la cadena transportadora de electrones (ψ_0), la probabilidad de que un fotón absorbido mueva un electrón en la cadena transportadora de electrones (ϕ_{E_0}) y el índice de funcionamiento (PI_{abs}) fueron ligeramente superiores o equivalentes a los de las plantas con cera (cuadro 18).

Cuadro 18. Resumen de los análisis OJIP para el sitio INV. SC= Plantas Sin Cera. CC= Plantas Con Cera. El símbolo (*) indica una diferencia ligera. La zona sombreada indica que los parámetros ϕ_{P_0} , ψ_0 , ϕ_{E_0} y PI_{abs} fueron mejores en las plantas SC. Año Mayo 2010 – Abril 2011.

MES	TEMPERATURA	HUMEDAD	LUZ	FASE J	FASE I	FASE P	ϕ_{P_0}	ψ_0	ϕ_{E_0}	PI_{abs}
Junio Agosto Noviembre Diciembre	Alta	Constante	Alta	Inhibida SC	Inhibida SC	Equivalente entre SC y CC	SC*<CC	SC*<CC	SC*<CC	SC<CC
	Baja	Alta	Baja							
Mayo	Alta	Baja	Alta	Inhibida SC	Estimulada SC	Inhibida SC	SC=CC	SC<CC	SC<CC	SC<CC
Julio Octubre	Alta	Baja	Baja	Inhibida SC	Equivalente entre SC y CC	Equivalente entre SC y CC	SC=CC	SC=CC	SC=CC	SC<CC
	En descenso	En descenso	En aumento							
Enero Febrero Abril	En descenso	En descenso	Baja	Estimulada SC	Estimulada SC	Estimulada SC	SC=CC	SC*>=CC	SC*<=CC	SC*<CC
Marzo	En aumento	En descenso	En aumento	Estimulada SC o igual	Estimulada SC o igual	Estimulada SC o igual	SC*<CC	SC*<CC	SC*<CC	SC<=CC

Acumulación de ácidos orgánicos y dinámica estomática.

Las determinaciones de ácidos orgánicos fueron realizadas para detectar las diferencias en el metabolismo MAC, entre las plantas con cera y sin cera. En ambos grupos se pudo apreciar la acumulación nocturna de ácidos orgánicos que identifica este comportamiento metabólico.

En los meses de Junio, Octubre y Noviembre la acumulación de ácidos orgánicos tuvo diferencias significativas, lo que indicó una mayor acumulación en las plantas sin cera (fig. 79).

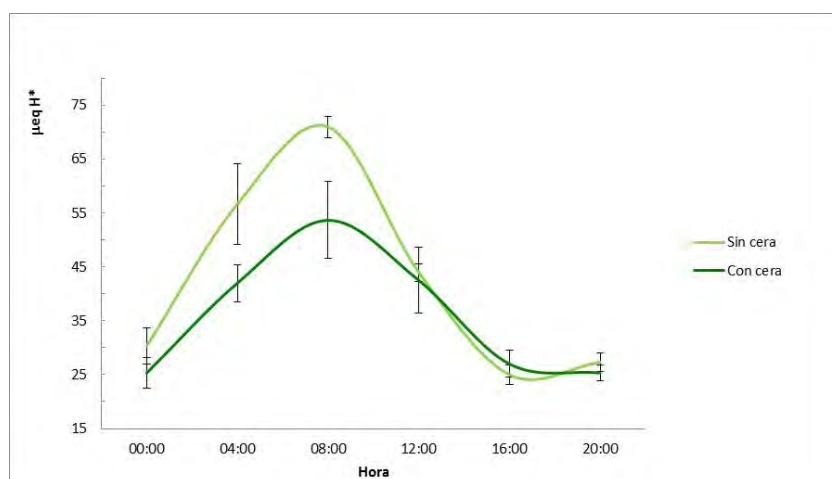


Figura 79. Acumulación de ácidos orgánicos en *Echeveria lau* del mes de Junio. El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre plantas con cera y sin cera. El mes de Octubre y Noviembre se encontró un comportamiento y diferencias similares. Las barras representan \pm error estándar, $n=3$. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$.

Sitio: Invernadero

En la dinámica estomática se encontró que el patrón inverso de apertura estomática típica del metabolismo MAC no se presentó todos los meses, cambió para las plantas con cera y sin cera. En el mes de Noviembre hubo diferencias significativas que indicaron que las plantas sin cera tuvieron una mayor apertura estomática (fig. 80).

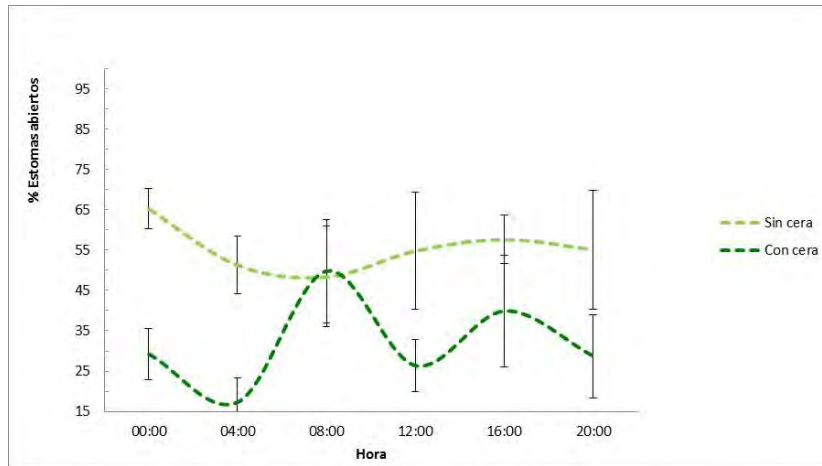


Figura 80. Apertura estomática en *Echeveria laui* del mes de Noviembre. El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre plantas con cera y plantas sin cera. Las barras representan \pm error estándar, $n=3$. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$. Año: 2010. Sitio: Invernadero.

El análisis estadístico indicó diferencias significativas en los meses de Diciembre, Febrero y Abril, cuando se presentó una mayor apertura estomática en las plantas con cera (fig. 81).

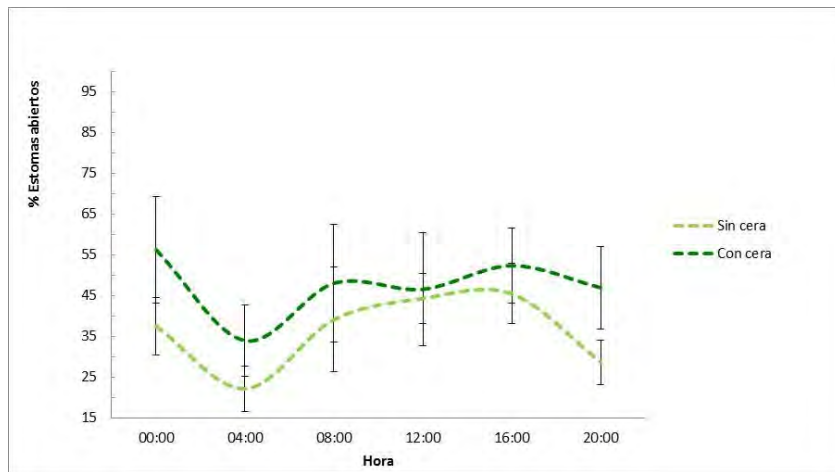


Figura 81. Apertura estomática en *Echeveria laui* del mes de Abril (2011). El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre plantas con cera y plantas sin cera. En el mes de Diciembre (2010) y Febrero (2011) se encontró un comportamiento y diferencias similares. Las barras representan \pm error estándar, $n=3$. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$. Sitio: Invernadero.

Temperatura de la hoja.

Al medir la temperatura de las hojas entre ambas plantas (con cera y sin cera) solamente se registraron diferencias significativas durante el mes de Enero (fig. 82), cuando las hojas sin cera presentaron una mayor temperatura.

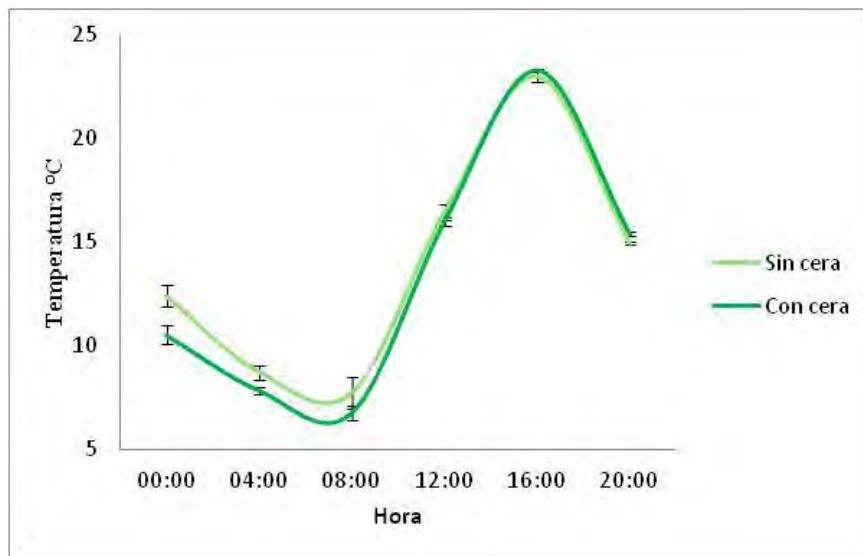


Figura 82. Temperatura de las hojas de *Echeveria laui* del mes de Enero. Las barras representan \pm error estándar, $n=3$. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$. Año 2011. Sitio: Invernadero.

Cuantificación de Clorofilas.

Clorofila a. El análisis estadístico indicó diferencias significativas en los meses de Diciembre, Enero, Marzo y Abril, cuando hubo mayor cantidad de clorofila a en las plantas sin cera (fig. 83).

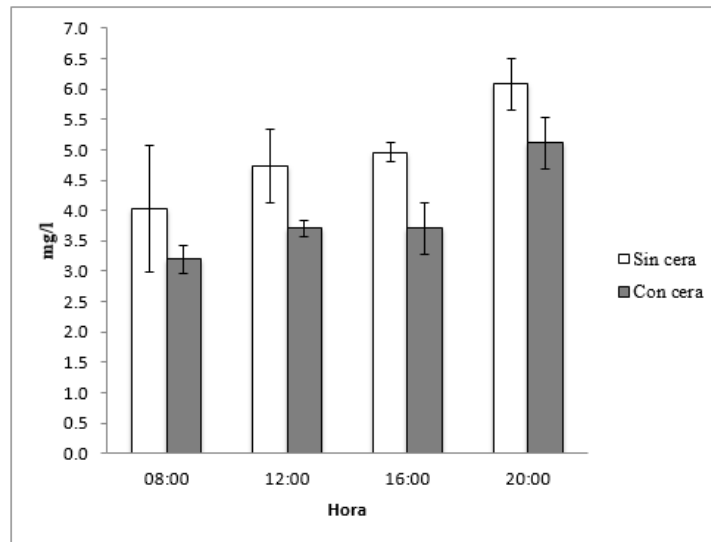


Figura 83. Concentración de clorofila *a* en *Echeveria laui* del mes de Enero. El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre plantas con cera y sin cera. En los meses de Diciembre (2010), Marzo y Abril (2011) se encontró un comportamiento y diferencias similares. Las barras representan \pm error estándar, $n=3$. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$. Sitio: Invernadero.

Clorofila b. El análisis estadístico indicó diferencias significativas en los meses de Diciembre y Enero, cuando hubo mayor cantidad de clorofila *b* en las plantas sin cera (fig. 84).

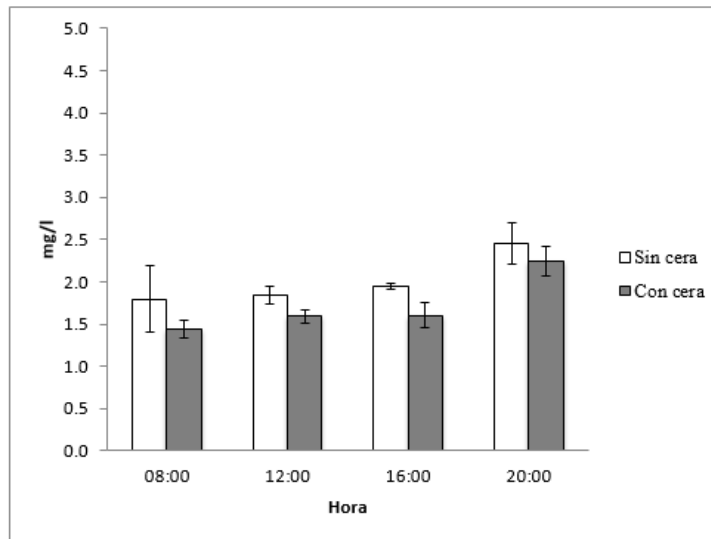


Figura 84. Concentración de clorofila *b* en *Echeveria laui* en el mes de Enero (2011). El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre plantas con cera y sin cera. En el mes de Diciembre (2010) se encontró un comportamiento y diferencias similares. Las barras representan \pm error estándar, $n=3$. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$. Sitio: Invernadero.

En el mes de Junio, el análisis estadístico indicó diferencias significativas pero a diferencia de las anteriores, la mayor cantidad de clorofila b se presentó en las plantas con cera (fig. 85).

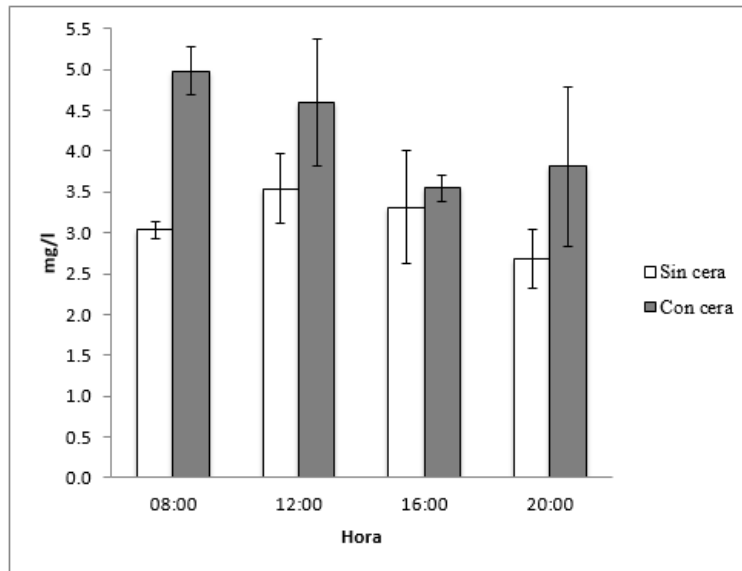


Figura 85. Concentración de clorofila b en *Echeveria laui* en el mes de Junio. El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre plantas con cera y sin cera. Las barras representan \pm error estándar, $n=3$. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$. Año 2010. Sitio: Invernadero.

Clorofilas totales. En los meses de Diciembre y Enero, el análisis estadístico indicó una mayor concentración de clorofilas totales en las plantas sin cera (fig. 86).

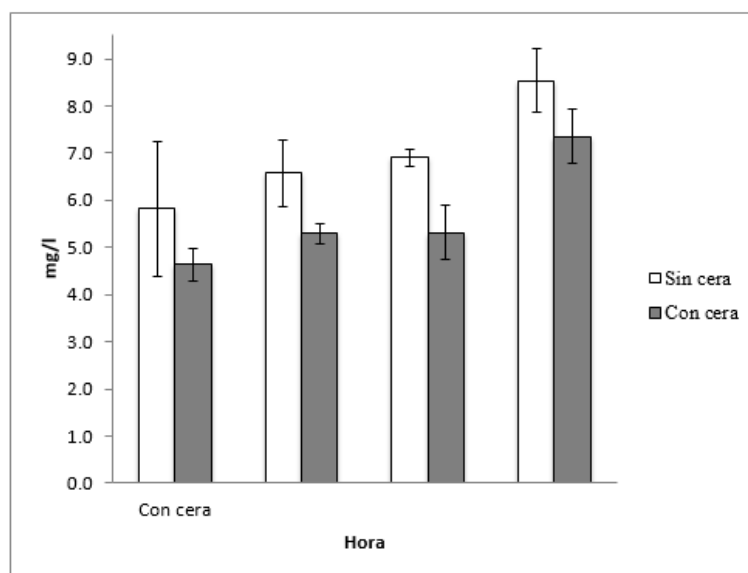


Figura 86. Concentración de clorofilas totales en *Echeveria laui* en el mes de Enero (2011). El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre plantas con cera y sin cera. En el mes de Diciembre (2010) se encontró un comportamiento y diferencias similares. Las barras representan \pm error estándar, $n=3$. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$. Sitio: Invernadero.

Relación clorofila a/b. El análisis estadístico indicó diferencias significativas en los meses de Mayo, Junio, Julio, Enero y Febrero, en las plantas sin cera hubo una mayor relación de clorofila a/b (fig. 87).

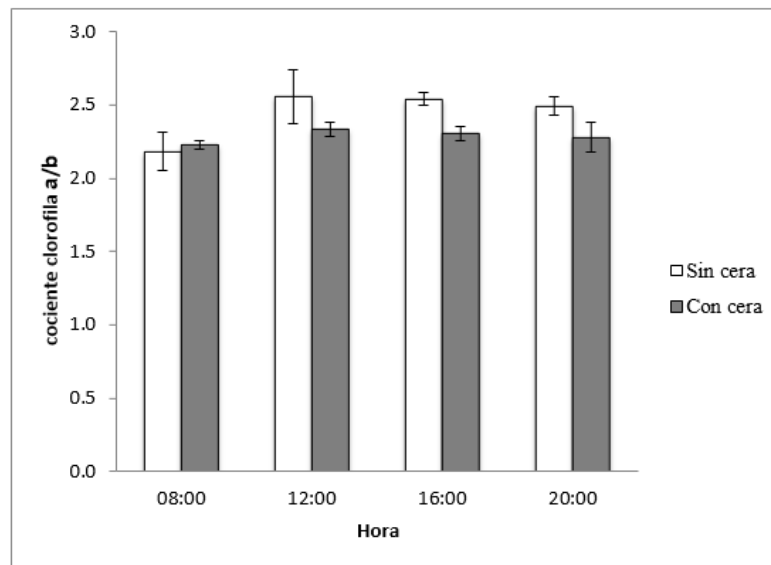


Figura 87. Relación entre clorofila a y b en *Echeveria laui* en el mes de Enero (2011). El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre plantas con cera y sin cera. En los meses de Mayo, Junio (2010) y Febrero (2011) se encontró un comportamiento y diferencias similares. Las barras representan \pm error estándar, n=3. ANOVA de dos factores con varias muestras por grupo, $\alpha < 0.05$. Sitio: Invernadero.

Perfil de pigmentos.

Los cromatogramas de los pigmentos de las plantas con cera y sin cera, se obtuvieron al finalizar los 12 meses de experimentación, debido a una diferencia de coloración (tonalidad rojiza) que se presentó en algunas plantas, entre las diferentes condiciones ambientales.

Los cromatogramas de las plantas con cera y sin cera fueron similares entre sí, como en la condición ambiental Vivero Intensidad Baja. En el análisis se encontraron los pigmentos fotosintéticos clorofila a, b (fig. 40 y 41) pero en ningún tratamiento de esta condición ambiental se encontraron pigmentos relacionados a las xantofilas (no se presentan cromatogramas).

Análisis de cera.

Al analizar la cera de *Echeveria laui* mediante la cromatografía de gases/masas se obtuvo que su composición es de un 3.36% (aproximadamente) de eicosano, mientras que el pico mayor que se muestra en el cromatograma (fig. 88) corresponde a un 64.98% (aproximadamente) de 12-Oleanona-3-yl acetato.

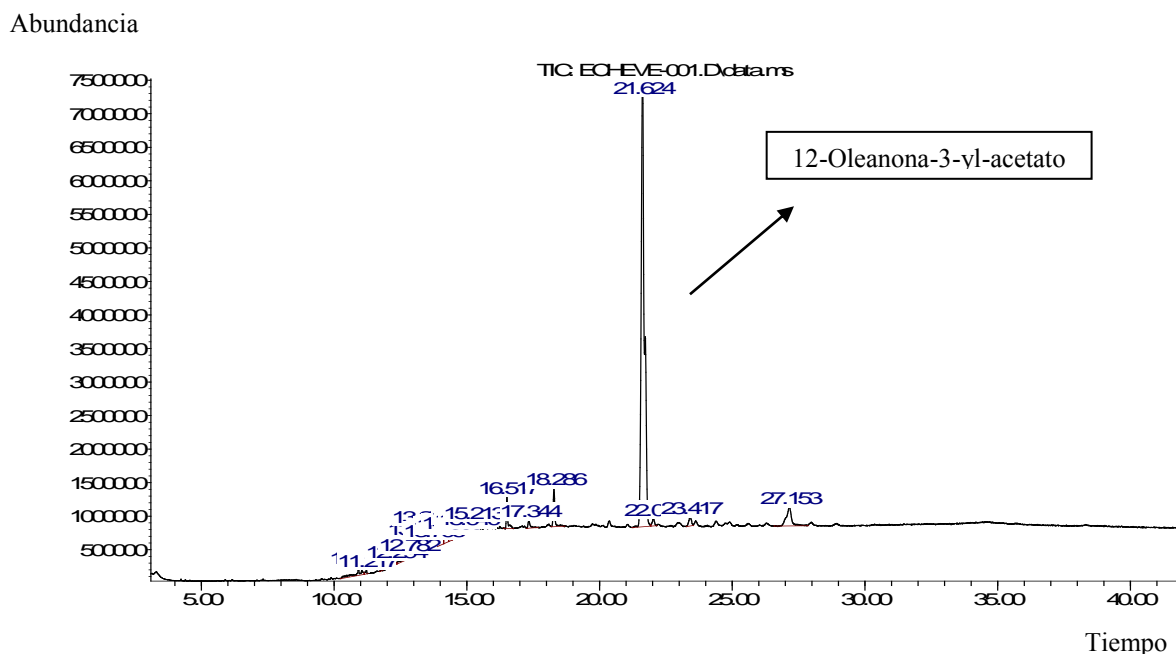


Figura 88. Cromatograma de la cera de la hoja de *Echeveria laui*.

Al analizar el espectro de masas del compuesto principal, se obtuvo una estructura pentacíclica, característica de los triterpenos (fig. 89). El compuesto tiene un peso molecular de $m/e = 468$, cuya fórmula molecular es $C_{32}H_{52}O_2$.

Abundance

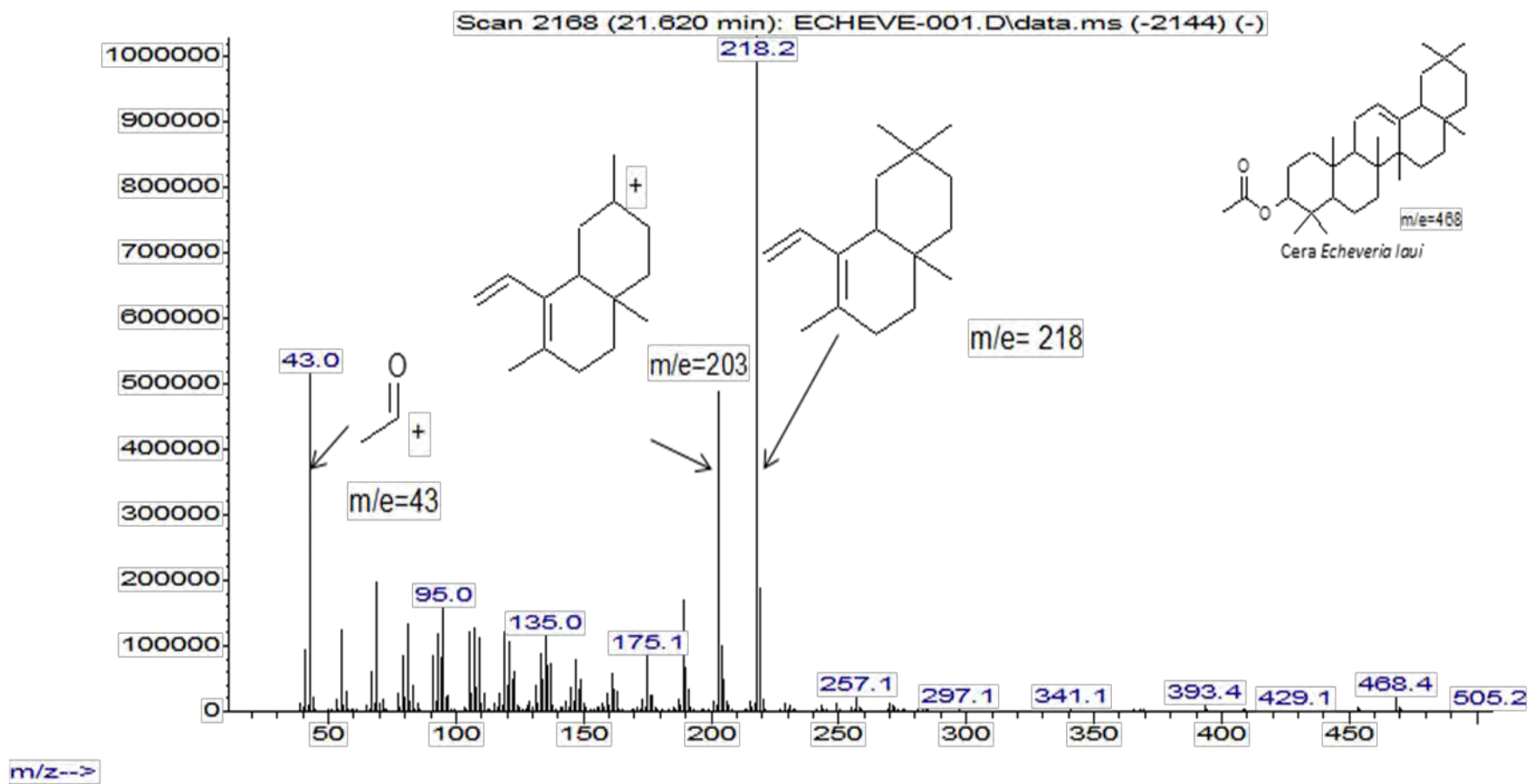


Figura 89. Espectro de masas del principal compuesto de la cera de la hoja de *Echeveria laui*.

Generación de cera.

Echeveria laui es una crasulácea que se caracteriza por la abundante cera blanquecina que cubre sus hojas. Esta cera se encuentra en la superficie de las hojas en grandes cantidades, presentándose durante todo el ciclo de vida de la planta. Al no haber información del proceso que ocurre en la planta para la generación de esta cera, se tuvo la hipótesis de que al retirarla de la superficie de la hoja se volvería a sintetizar y la hoja se recubriría de cera.

En las plantas que fueron colocadas bajo la condición ambiental Vivero Intensidad Baja (fig. 90), se observó que solamente las hojas cercanas al ápice caulinar de la planta (3-4 visibles) se volvían a cubrir de cera (fig. 90 A1-A2) después de 2 meses de que la cera se retiró.

Las hojas que ya no se encontraban en el centro del ápice no se recubrieron de cera, es decir, no hay una re-síntesis. Después de 3 meses de haber sido removida la cera de manera mecánica de las hojas de *Echeveria laui* (fig. 90 A3), se pudo observar que las hojas provenientes del ápice caulinar fueron las que estaban cubiertas de cera y su posición va cambiando conforme crece la crasulácea. Por lo tanto, solo las hojas nuevas de *E. laui*, tuvieron cera.

Al ser comparado el crecimiento de las plantas a las que se les retiró la cera con las plantas con cera, se observó que el retirar la cera no afectó de manera visible el desarrollo de la crasulácea (fig. 90 B1-B3).

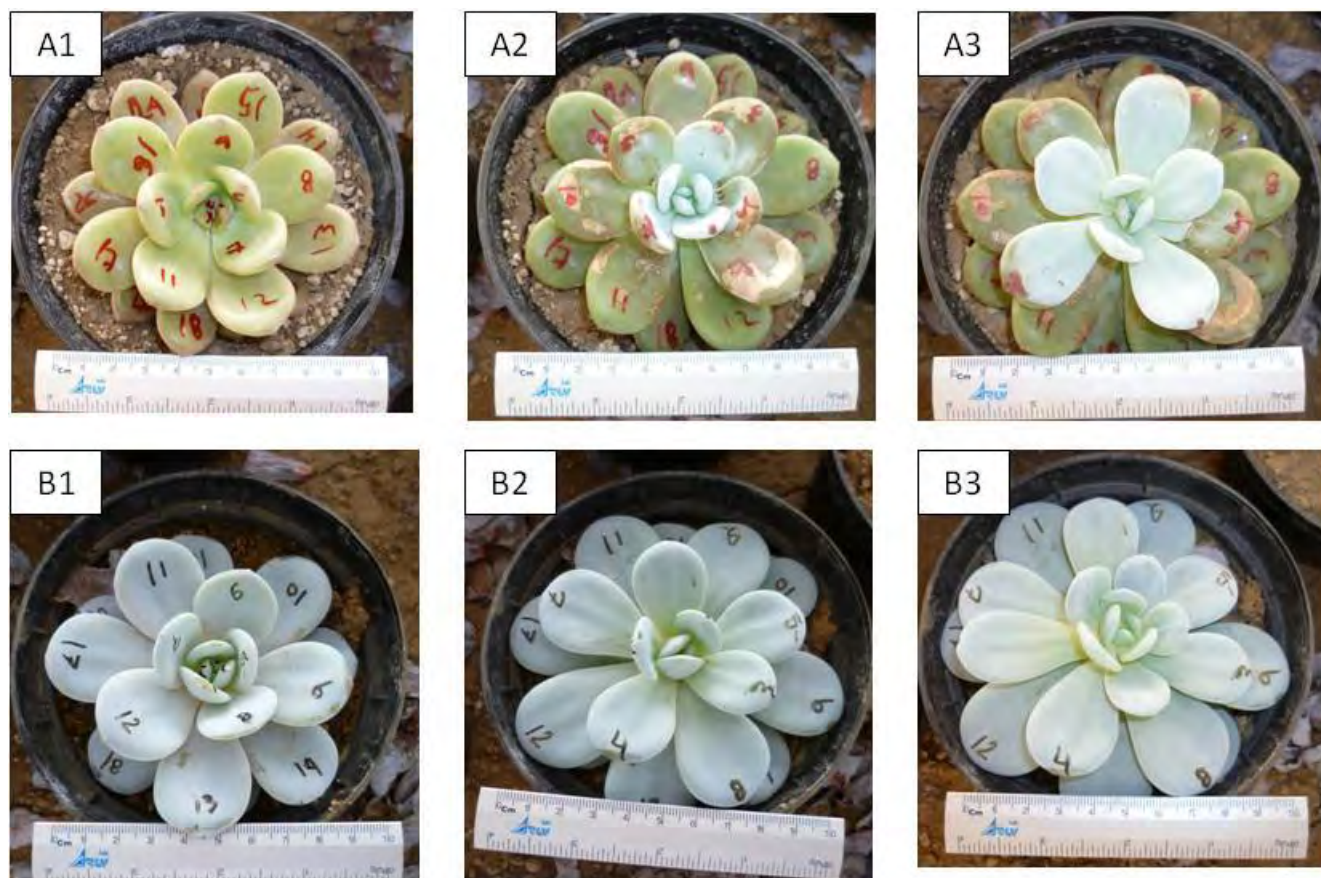


Figura 90. Generación de cera. A= *Echeveria laui* con remoción de cera. B= *Echeveria laui* sin remoción de cera.

1= Inicio de experimento. 2= Transcurridos 2 meses. 3= Transcurridos 3 meses. Sitio: Vivero Intensidad Baja.

En las tres condiciones ambientales (VIB, VIA e INV) se observó los mismos resultados (fig. 91 y 92), las hojas cercanas al ápice caulinar fueron las que estuvieron cubiertas de cera y la remoción de esta no tuvo un efecto visible en el desarrollo de la crasulácea.

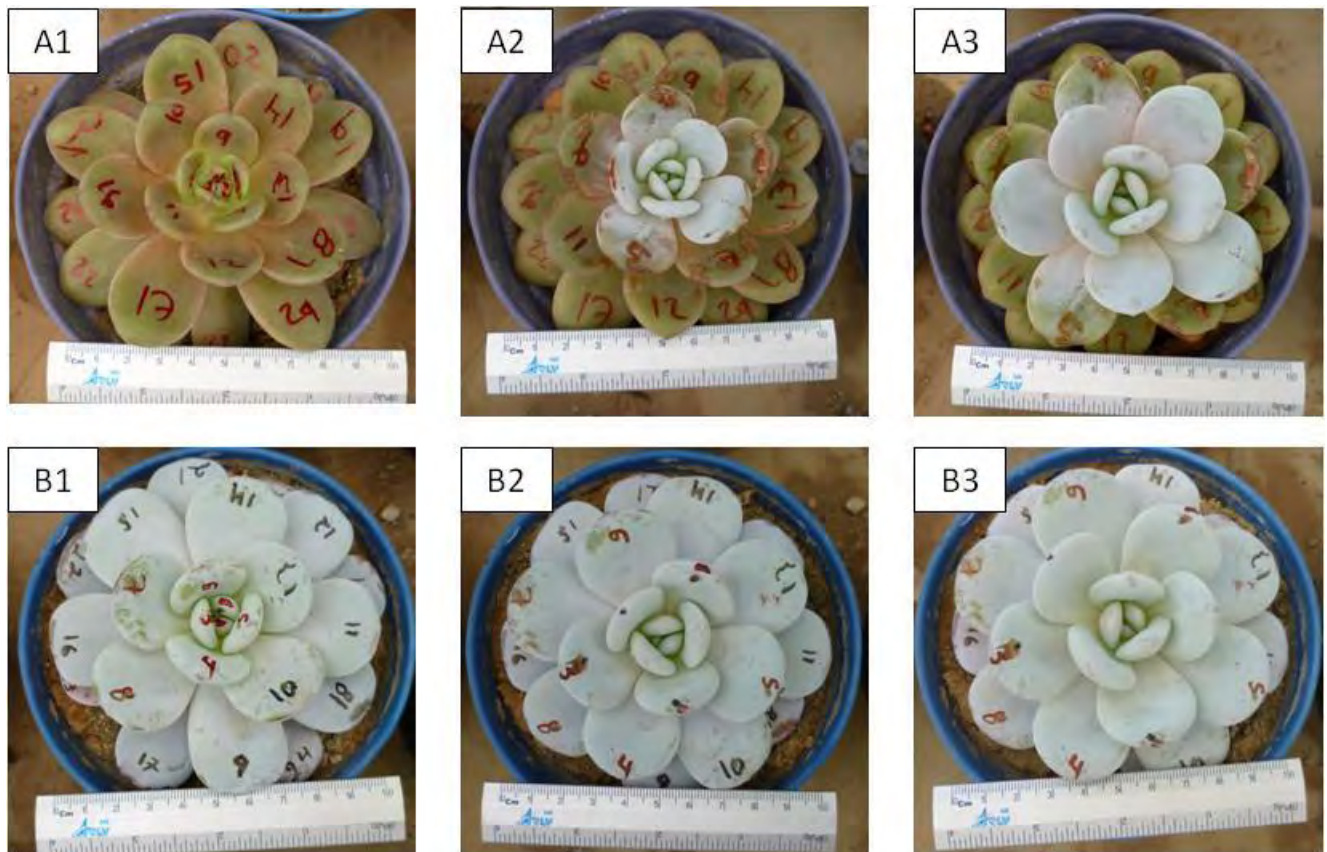


Figura 91. Generación de cera. A= *Echeveria laui* con remoción de cera. B= *Echeveria laui* sin remoción de cera.

1= Inicio de experimento. 2= Transcurridos 2 meses. 3= Transcurridos 3 meses. Sitio: Vivero Intensidad Alta.



Figura 92. Generación de cera. A= *Echeveria laui* con remoción de cera. B= *Echeveria laui* sin remoción de cera.

1= Inicio de experimento. 2= Transcurridos 2 meses. 3= Transcurridos 3 meses. Sitio: Invernadero.

DISCUSIÓN.

Cuantificación de la fotosíntesis mediante la cinética de emisión de fluorescencia de la clorofila a.

En el VIB se observó que al existir temperatura elevada y humedad relativa baja, en las plantas sin cera se afectó el acarreo en la cadena transportadora de electrones. Las fases OJIP se inhibieron respecto al control afectando el índice de rendimiento $PI_{(abs)}$ (Mayo, Junio 2010, Febrero, Marzo, Abril 2011).

Cuando la temperatura disminuyó y la humedad relativa se incrementó, hubo un mejor transporte de electrones en las plantas sin cera, cuando $PI_{(abs)}$ resultó mayor (Octubre y Noviembre).

En VIB la mayor intensidad luminosa fue $62.8 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, aun con una intensidad baja, se pudieron encontrar valores ligeramente mayores en la eficiencia cuántica máxima de la reacción fotoquímica primaria (ϕ_{P_0}). Las plantas con cera tuvieron un valor mayor en la eficiencia con la que un excitón atrapado puede mover un electrón más allá de Q_A^- en la cadena transportadora de electrones (ψ_0).

En VIA se observó que al haber una elevada temperatura e irradiación luminosa y baja humedad relativa, las plantas sin cera presentaron una inhibición en las fases OJIP (Mayo, Junio, Agosto, Octubre 2010, Marzo, Abril 2011). Cuando las condiciones climáticas fueron favorables (baja intensidad de luz, temperatura y alta humedad relativa) las plantas sin cera tuvieron mayores valores en ϕ_{P_0} , ψ_0 , ϕ_{E_0} y $PI_{(abs)}$, (Julio, Noviembre, Diciembre 2010, Enero, Febrero 2011). En comparación con los tratamientos de VIB, en estas condiciones ambientales hubo mayor irradiación lumínica ($385.2 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ máxima), lo que se reflejó en los valores de la fotoquímica primaria (ϕ_{P_0}) y en la eficiencia con la que un excitón atrapado puede mover un electrón más allá de Q_A^- en la cadena transportadora de electrones (ψ_0).

Por último en el INV, las plantas sin cera presentaron inhibición en las fases OJIP cuando hubo altas irradiaciones y temperaturas pero baja humedad, invirtiéndose este comportamiento ante condiciones opuestas, como sucedió en VIB y VIA. Sin embargo, en las tres condiciones ambientales (VIB, VIA e INV), hubo ocasiones donde la inhibición no se dio en las 3 fases, en el mes de Julio, bajo las tres condiciones ambientales en las plantas sin cera solo se inhibió la fase J, comportándose la fase I y P similar al control.

En las plantas sin cera las fases J e I, se inhibieron pero P se comportó de manera similar a las plantas con cera, como sucedió en VIB (Octubre, Noviembre, Febrero, Marzo, Abril), VIA (Mayo, Junio, Agosto, Octubre, Marzo, Abril) e INV (Junio, Agosto, Noviembre y Diciembre).

En las tres condiciones ambientales, se observaron diferentes comportamientos, pero a grandes rasgos, en los meses cuya temperatura e irradiación luminosa fueron elevadas y la humedad relativa fue baja, las plantas con cera presentaron un transporte en la cadena transportadora de electrones eficiente. Bajo estas condiciones, en los tres sitios se observó en las plantas sin cera una inhibición en la cadena transportadora, particularmente en la fase J lo que indica que existe una acumulación de Q_A^- , donde puede o no existir flujo de electrones más allá de este aceptor reducido (Valdés, 2005).

Entre los sitios de Vivero Intensidad Baja (VIB) y Vivero Intensidad Alta (VIA), el factor que sufrió mayor modificación fue la irradiación lumínica, las plantas sin cera colocadas en VIB presentaron ligeras diferencias en los valores de la fotoquímica primaria (ϕ_{PO}), con respecto a las plantas control, mientras que las plantas sin cera que estuvieron en VIA tuvieron mayores diferencias, lo cual es atribuible a la irradiación luminosa, ya que ϕ_{PO} , se refiere a la fase luminosa y su valor puede ser modificado por la intensidad lumínica (González *et al.*, 2008).

Por otro lado, en lo que respecta a la eficiencia con la que un excitón atrapado puede mover un electrón más allá de Q_A^- en la cadena transportadora de electrones (ϕ_o) este valor siempre resultó ser más elevado en las plantas con cera debido a que esta relacionado a la fase térmica y su valor no lo modifica la luz pero si la temperatura (González *et al.* 2008). La temperatura altera el estado redox de los componentes de la cadena de transporte de electrónico fotosintético (Alfonso *et al.*, 2000).

Además, de que en las plantas sin cera suele presentarse un incremento en F_o (fluorescencia mínima), el incremento de este parámetro se debe a una oxidación deficiente de Q_A^- , afectando de esta forma los procesos fototermiales, como la reducción de Q_B y plastoquinona, esto se relaciona con el cierre de centros de reacción por la reducción de Q_A y la reducción del pool de quinonas (Valdés, 2005), debido a que cuando los centros de reacción se encuentra “cerrados” están

totalmente *reducidos*. La presencia de estos conduce a una disminución en la eficiencia fotoquímica, con un correspondiente aumento en la fluorescencia (González *et al.*, 2008).

Cuando disminuye la captación de energía, el desequilibrio que existe entre la actividad de la fijación del CO₂ y la cantidad de energía lumínica que es capturada y utilizada en la fotoquímica causa un incremento de Q_A⁻ y aumento de centros de reacción inactivos, se puede provocar la fotoinhibición, ya que incrementa la energía disipada por calor (Kitao *et al.*, 1997), como lo que ocurre en las plantas a las cuales se les retiró la cera. El fotosistema II (PSII) es el blanco principal de los factores que provocan los distintos tipos de estrés abiótico (Krüger *et al.*, 1997), por ejemplo, la luz daña principalmente al PSII produciendo inactivación del transporte electrónico y daños en las subunidades del centro de reacción, estos daños inducidos por la luz representan un problema para la planta cuando la velocidad con la que se produce el daño excede la capacidad de reparación. Esta situación se conoce con el nombre de fotoinhibición, esta se ve favorecida por la exposición prolongada a intensidad de luz alta, temperaturas altas o bajas, deficiencia de agua o de CO₂, cuando la planta se encuentra sometida a alguno de estas formas de estrés, la fotoinhibición puede suceder incluso a intensidades de luz moderadas (Andersson y Aro, 2001). Con el fin de evitar o minimizar la fotoinhibición, las plantas han desarrollado varias estrategias, las cuales se basan en cambios en la distribución de la antena del PSII entre los dos fotosistemas (transiciones de estado), en la disipación del exceso de energía captado en forma de calor y principalmente en la reparación del PSII, reemplazando sus proteínas dañadas (Aro *et al.*, 1993).

En algunas ocasiones se pudo apreciar inhibida la fase J en el análisis OJIP, pero existía un comportamiento similar en la fase I, I y P, o solo P entre las plantas con cera y sin cera. Cuando existe una inflexión en estas fases, la reducción (Q_B hasta plastoquinona) puede darse debido a la clororespiración (Haldiman y Tsimilli, 2002) o por la presencia de un donador alternativo de electrones como la prolina (De Ronde *et al.*, 2004).

La cera es otra estrategia mediante la cual, la planta puede protegerse de las elevadas irradiaciones luminosas, se ha visto que varias especies de plantas que experimentan de manera natural altos niveles de UV-B desarrollan hojas glaucas o pubescentes, estas pueden ser ventajosas en dichos ambientes (Karabourniotis *et al.*, 1993; Barnes *et al.*, 1994). La cera epidérmica en *Cotyledon orbiculata* posee una función fotoprotectora como fotoinhibidor de luz, cuando se retiró la cera de esta planta la eficiencia del PSII se redujo un 50% (Robinson *et al.*,

1993), justo como ocurre en plantas de *E. laui* en su ambiente natural o bajo altas irradiaciones lumínicas.

La cera posee propiedades reflectoras y dota a las hojas de una pantalla parcial de sombra, reduciendo la absorción y potencial daño por el exceso de luz (Robinson *et al.*, 1993), por lo que actúa como un bloqueador no específico de la incidencia de luz (Barker *et al.*, 1997)

Por otra parte, cuando hubo bajas temperaturas e irradiaciones lumínicas pero un incremento en la humedad relativa del ambiente, las plantas sin cera tendieron a presentar valores semejantes e inclusive mayores (PI_{abs}) a los de las plantas control, es decir se estimuló la cadena transportadora de electrones. Al presentarse menores irradiaciones luminosas, la cera puede decrecer la absorción de luz (Robinson, *et al.*, 1993), y reducir la fotosíntesis, tal y como se ha observado en pino (*Stika spruce*), la cera encontrada en su antecámara estomática reduce la fotosíntesis a 1/3 de su capacidad (Jeffree *et al.*, 1971).

En cuanto a las plantas de *Echeveria laui* que fueron muestreadas en su sitio de origen, se observó que al presentarse elevadas temperaturas, irradiaciones luminosas y baja humedad relativa, la cadena transportadora de electrones es muy baja en ambas plantas (con cera y sin cera) y hubo una gran cantidad de centros de reacción apagados. El apagado de centros de reacción no necesariamente es un proceso dañino, sino que es un mecanismo fotoprotector (De Ronde *et al.*, 2004). Se ha visto que la activación e inactivación de centros de reacción puede ser característico en organismos que pueden adaptar su aparato fotosintético a los efectos de los diferentes tipos de estrés abiótico (Valdés, 2005).

En época de lluvias (Julio-Septiembre), el transporte en las plantas con cera resulta ser efectivo, en comparación a las plantas sin cera, que presentan un nulo transporte de energía y una gran cantidad de centros de reacción apagados. Las reacciones del transporte electrónico en plantas suculentas del desierto, toleran altas temperaturas, lo que les permite a estas plantas aclimatarse a las variaciones estacionales de este factor, como se ha visto en *Agave deserti* y *Opuntia ficus-indica*, la alta tolerancia que presentan estas suculentas a las temperaturas elevadas, las capacita para sobrevivir en desiertos cálidos (Mahadev, y Nobel, 1987). A pesar de las elevadas

temperaturas e irradiaciones lumínicas y bajas humedades relativas a las que está sometida *E. laui* en su sitio de origen, se registró que la planta es capaz de mantener su fotosíntesis con ayuda de la cera, específicamente permite el buen acarreo en la cadena transportadora de electrones, lo que indica que *E. laui* se trata de una especie tolerante al estrés (como lo señala Piña-Poujol *et al.*, 2007) y que la cera de sus hojas protege su maquinaria fotosintética de las elevadas irradiaciones luminosas y las altas temperaturas.

Acumulación de ácidos orgánicos y Dinámica estomática.

En lo que respecta a estas pruebas, solamente se encontraron diferencias significativas en ciertos meses (a diferencia de las pruebas de fluorescencia).

En el sitio VIB encontramos en dos meses (Mayo y Junio) que en las plantas sin cera hubo una mayor acumulación de acidez. Sin embargo, a pesar de que no existieron diferencias en los demás meses entre las plantas con cera y sin cera, si se pudo detectar en ambos tratamientos las cuatro fases del metabolismo MAC. Este tipo de metabolismo se presentó a pesar de la baja irradiación lumínica ($62.8 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$), ya que se ha visto que aunque no exista una alta irradiación lumínica puede haber altos niveles de acidez en especies MAC, como sucede en *P. weberi*, *S. stellatus* y *E. chiotilla*, (Hernández-González y Briones, 2007).

En las condiciones ambientales VIA e INV, las plantas sin cera tuvieron una mayor concentración de ácidos orgánicos en los meses de Mayo (VIA), Junio, Octubre y Noviembre (INV), meses que tuvieron una alta irradiación lumínica.

En las plantas colocadas en VIA, en Septiembre, Diciembre y Marzo, las plantas con cera acumularon más ácido, en estos meses se presentó una elevada humedad relativa y bajas temperaturas e irradiaciones lumínicas.

En las tres condiciones ambientales (VIB, VIA e INV) se pudo detectar el metabolismo MAC, a pesar de las diferencias entre luz, temperatura y humedad relativa, lo que nos permite corroborar la habilidad de estas plantas para optimizar su eficiencia fotosintética, con lo que evitan la sobreenergización del fotosistema II (Griffiths y Smith, 1983; Adams *et al.*, 1987; Barker y Adams, 1997; De Mattos *et al.*, 1997; Lüttge, 2004).

El metabolismo MAC puede ser modificado por factores ambientales tales como: fotoperiodo, temperatura diurna y la cantidad de agua disponible en el ambiente (Mandujano, 1988), pero al

parecer la ausencia de cera en la superficie de las hojas de *E. laui* no es capaz por si sola de modificar este metabolismo en la planta, inclusive aún se discute la presencia de la cera en la acumulación de acidez nocturna (Robinson *et. al.*, 1993).

En lo que respecta a la dinámica estomática, en los sitios VIB e INV, hubo meses que presentaron mayor apertura en la noche en las plantas sin cera, (meses con elevada humedad relativa), y otros donde fueron las plantas con cera donde se observó la mayor apertura nocturna, estos meses tuvieron bajas temperaturas e irradiaciones lumínicas y altas humedades relativas. Sin embargo, el criterio de que los estomas estén abiertos durante la noche y cerrados durante las horas de luz del día que corresponde a la fase III del MAC (Ting y Rayder, 1985; Medina *et al*, 1989), si fue evidente a lo largo de todo el año, en las plantas con cera y sin cera colocadas en las tres condiciones ambientales.

También se pudo apreciar, que las plantas de *E. laui* no cierran todos sus estomas completamente en el día, se sabe que algunas plantas MAC no cierran sus estomas completamente durante el día, lo cual trae como consecuencia la pérdida de agua durante el período de luz por transpiración (Osmond, 1978), pero también la presencia de cera contribuye a aumentar los valores de resistencia estomática y cuticular a la pérdida de agua (Ting y Szarek, 1975) lo que le podría explicar por qué *E. laui* no cierra completamente sus estomas.

En *Echeveria laui*, la cera protege al aparato fotosintético y junto con metabolismo el CAM (y la capacidad de ser modificado) proveen a esta crasulácea las herramientas necesarias para sobrevivir en su sitio de origen.

Temperatura.

Al igual que en las pruebas anteriores, solo hubo diferencias puntuales en Julio para VIB, Agosto en VIA y Enero en INV. Estos meses tuvieron temperaturas ambientales elevadas, así que, aunado a que hemos visto cómo afecta en los valores de fluorescencia el retirar la cera, en estos meses, la cera permitió a las hojas de las plantas con cera, tener una menor temperatura. Sin embargo, esto no parece tener efecto sobre la acidez, lo que sustenta el hecho de que no parece existir una temperatura óptima para el metabolismo ácido, sino más bien un rango de temperatura

que puede estar por debajo de 20°C durante la noche y más de 25°C durante el día, dependiendo de la planta y el lugar donde esta habite (Mandujano, 1988). Aunque el efecto de la temperatura sobre el proceso de fijación del CO₂ en las plantas MAC, ha sido muy discutido (Nobel y Hartsock, 1979).

Cuantificación de clorofila.

En el sitio VIB fue constante que las plantas sin cera tuvieran mayor cantidad de clorofila a, b y totales solamente en el mes de Junio, el cual tuvo una elevada temperatura e irradiación lumínica, pero baja humedad relativa, mientras que en el sitio INV, se presentó el mismo efecto pero en los meses de Diciembre y Enero, donde hubo elevada humedad relativa y bajas temperaturas e irradiaciones lumínicas.

En cuanto al cociente de clorofila a/b, este varió entre 1 y 2.5 dependiendo del mes y de la condición ambiental, pero casi no hubo variación entre las plantas con cera y sin cera. Estos valores no corresponden con los de las plantas crecidas en pleno sol, el cual es de alrededor de 4-5 para hojas de plantas crecidas en pleno sol y de 2.5 para plantas crecidas en sombra (Azcón-Bieto y Talón, 2008). Tal vez esto podría indicar que *E. laui* requiere de intensidades luminosas más elevadas (como las de Santiago Quiotepec) y que la cera la protege de la elevada irradiación lumínica de donde es originaria esta especie.

Echeveria laui no tuvo variación entre el cociente de clorofila a/b entre las plantas con cera y sin cera. Se han reportado otros miembros de la familia, como *Cotyledon orbiculata* donde el cociente de clorofila a/b permanece constante durante el desarrollo del organismo (Barker *et al.*, 1997).

Perfil de pigmentos.

El análisis de los pigmentos en HPLC se realizó debido a que las plantas presentaron una coloración rojiza, las plantas sometidas a altas irradiaciones lumínicas (VIA) presentaron otros pigmentos además de las clorofilas a y b, tales como la violaxantina (en plantas con cera y sin cera) y la zeaxantina (plantas sin cera).

La presencia de estos pigmentos, confirma el papel de la cera en la protección contra las altas irradiaciones de luz, ya que la violaxantina es un pigmento del ciclo de las xantofilas que se presenta en bajas condiciones luminosas, este compuesto se convierte a la molécula intermediaria anteraxantina para depoxidarse y da lugar a la zeaxantina, un compuesto que permite la disipación de la energía como calor (Taíz y Zeiger, 2002). Este es uno de los mecanismos adaptativos que han desarrollado la mayoría de las plantas para evitar los daños oxidativos (D'Haese *et al.*, 2004). Este mecanismo no se presentó en las plantas bajo la condición ambiental VIB e INV, pero al estar presente en la condición ambiental VIA, nos indica que junto con la cera y el metabolismo MAC, *E. laui* es una planta adaptada para vivir en condiciones extremas y soportar estrés por luz y temperatura.

La diferencia encontrada entre las plantas con cera y sin cera coincide con lo reportado por Robinson y colaboradores (1993), quienes retiraron la cera de las hojas en otra crasulácea (*Cotyledon orbiculata*) encontrando grandes concentraciones de intermediarios del ciclo de las xantofilas en las hojas sin cera y se correlacionaron con grandes niveles de disipación de energía en hojas jóvenes (Robinson *et al.*, 1993).

En lo que respecta a la coloración rojiza que se presentó en las plantas de la condición ambiental VIA, solo se pudo apreciar (bajo microscopio estereoscópico) que el color provino de unas placas que se encontraban dispuestas a manera horizontal debajo de la epidermis de la hoja (datos no mostrados) y no se realizó ningún análisis del compuesto. Compuestos con apariencia similar han sido reportados en otros miembros de la familia de las crasuláceas, se han reportado numerosas células con taninos (*Crassula argentea*) y antocianinas (*Cotyledon orbiculata*), los cuales poseen tonalidades rojizas y se disponen a manera de placas debajo de la epidermis de sus hojas (Rost, 1969; Barker *et al.*, 1997). Las antocianinas se han reportado como fotoprotectores externos que incrementan la reflectividad de la luz (Robinson *et al.*, 1993).

En caso de que el compuesto observado fuese el que se encontró en *Cotyledon orbiculata* (antocianinas), este sería un compuesto que le brinda una mayor protección a *E. laui* y por tanto una ventaja adaptativa en su ambiente.

Análisis de cera.

La superficie fotosintética en plantas CAM se caracteriza por la disposición de grandes cantidades de cera (Silva y Silva, 2001). El término ceras se usa en un sentido amplio que incluye compuestos cíclicos como los triterpenoides pentacíclicos (Riederer y Markstädter, 1996), estos son un grupo de metabolitos secundarios derivados del escualeno, cuya característica es que contienen 30 átomos de carbono. Su función ecológica y fisiológica ha sido pobremente entendida hasta la fecha (Guhling *et al.*, 2006), no están claras las funciones generales de los triterpenoides cuticulares (vanMaarseveen *et al.*, 2009), en *Dudleya brittonii* y *D. farinosa* parece estar relacionado con la distribución geográfica y la morfología de la flor (Manheim, y Mulroy, 1978).

La fracción de triterpenoide cuticular de muchas especies de plantas esta dominada por el lupeol, α -amyrina y/o β -amyrina (Hemmers *et al.*, 1988; Wollenweber *et al.*, 1999; Guhling *et al.*, 2006). Las ceras cuticulares comprenden típicamente series homólogas de n-ácidos saturados de C₂₀ (Croteau, y Fagerson, 1971), además muchas especies de plantas también contienen compuestos cíclicos (Gülz *et al.*, 1992; Jetter *et al.*, 2002; Ji y Jetter, 2008).

Echeveria laui posee eicosano (3.36%) y un triterpeno en un 64.98%. En *Sedum* los alcanos (C₁₅-C₃₄) y triterpenoides son los constituyentes mayores de la cera (Stevens *et al.*, 1994). Los triterpenoides, tocoferoles y compuestos aromáticos pueden estar presentes en cantidades que varían de trazas hasta mayores al 50% en el total de la mezcla de ceras algunas especies (vanMaarseveen, y Jetter, 2009). Grandes cantidades de triterpenoides se han encontrado especialmente en las ceras de tallo de crasuláceas (Manheim *et al.*, 1978), como en *Kalanchoe daigremontiana* donde los triterpenoides dominan la mezcla de la cera, un 74% en hojas nuevas y un 45% en hojas viejas (vanMaarseveen *et al.*, 2009). Los triterpenoides se han reportado en la cera de las hojas de *Bryophyllum*, *Dudleya Britt* y *Rose*, *Echeveria* y *Kalanchoe* (Hegnauer, 1989).

El triterpenoide encontrado en *Echeveria laui* presenta semejanza con el β -amyrenil acetato, ya ha sido aislado de ceras de *Dudleya brittonii* y *D. farinosa* (Manheim, y Mulroy, 1978), este compuesto es el que da una apariencia glauca a la superficie de las plantas (Manheim *et al.*,

1978). En *Sedum* se detectaron 14 triterpenos, el más abundante fue el β -amyrenil acetato (Stevens *et al.*, 1994), en la cera de *Echeveria secunda* Booth exLindl (Horn, y Lamberton, 1964), en *Kalanchoe fedtschenkoi*, *K. gastonis-bonnieri*, *K. marnieriana*, *K. miniata*, *K. pumila* y *K. thyrsiflora* se han reportado glutinol, glutinona y β -amyrenona en los constituyentes de la cera (Siems *et al.*, 1995).

El β -amyrin acetato se ha encontrado como el compuesto mayor en la composición de la cera y esta relacionado muy cercanamente con el género *Echeveria* (Horn y Lamberton, 1964).

Generación de cera.

Echeveria laui es una crasulácea del territorio mexicano poseedora de una inigualable belleza de su roseta y la abundante cera blanquecina que cubre sus hojas suculentas, (González, 2007). De manera empírica, se creía que al retirar la cera de las hojas (por contacto) esta era re-sintetizada por la planta. En este trabajo se comprobó que la síntesis de esta cera solamente se da en la parte apical de la planta y que las hojas maduras no la sintetizan de nuevo si se es removida.

De tal forma, que la génesis de la cera representa un tema de estudio de suma importancia, ya que a diferencia de otros miembros de la familia Crassulaceae, *Echeveria laui* no resintetiza la cera al removerla de la superficie de su hoja, ni la sintetiza conforme a su desarrollo, como se ha visto en *Kalanchoe daigremontiana*, donde al propagar la crasulácea por esqueje de hoja se esta crece sin cera y se va cubriendo conforme la hoja va creciendo, encontrando que después de 53 días la cera cuticular cubre las hojas y la acumulación de la misma permanece constante deteniéndose su biosíntesis de manera simultánea con la expansión de la hoja (vanMaarseveen *et al.*, 2009), caso contrario a *E. laui*, donde la hoja continua su expansión sin síntesis de cera.

También se ha monitoreado el desarrollo de *Cotyledon orbiculata* y (al contrario de *E. laui*) las hojas nuevas de la planta crecen sin cera, esta se va depositando en la superficie de la hoja conforme a la edad de la misma (Barker *et al.*, 1997), encontrando que hasta el día 35 de su desarrollo se recubre totalmente de cera (Robinson *et al.*, 1993).

CONCLUSIÓN.

- La cera protege el aparato fotosintético de *E. laui*, específicamente favorece un efectivo acarreo de electrones más allá de Q_A^- .
- La cera protege de las elevadas irradiaciones luminosas (ϕ_{Po}) y de las elevadas temperaturas (ψ_o) de su sitio de origen.
- La cera permite un mayor índice de rendimiento fotosintético (PI_{abs}) en *E. laui*.
- La cera, junto con el metabolismo MAC, hace de *E. laui* una planta tolerante al estrés.
- La cera no modifica la acumulación de ácidos orgánicos ni la dinámica estomática de *E. laui*.
- La cera aunada al ciclo de las xantofilas y la presencia de otros compuestos fotoprotectores permiten a *E. laui* protegerse de las altas irradiaciones luminosas y dispersar el exceso de energía como calor.
- La cera de *E. laui* está compuesta principalmente por triterpenos, específicamente de 12-oleanona-3yl-acetato, el cual guarda mucha similitud con el β -amyrenil acetato reportado para otras crasuláceas.
- La síntesis de cera de *Echeveria laui* solo se da en las hojas jóvenes cercanas al ápice (hojas nuevas), y las hojas a las que se les ha retirado la cera no vuelven a producirla.

LITERATURA CITADA.

- Adams, W. W. III., Osmond, B., Sharkey, T. D. 1987. Responses of two CAM species to different irradiances during growth and susceptibility to photoinhibition by high light. *Plant Physiology*. 83: 213-218.
- Adams, W. W., III., Demmig-Adams, B. 1996. Energy dissipation and the xanthophyll cycle in CAM plants. En: Winter, K., Smith, J. A. (eds) *Crassulacean acid metabolism, Biochemistry, Ecophysiology and evolution-ecological studies*. Vol. 114. Springer-Verlag, Berlin. pp: 97-114.
- Alfonso, M., Perewoska, I., Kirilovsky, D. 2000. Redox central control of psbA gene expression on in the cyanobacterium *Synechocystis* pcc6803. Involvement of the cytochrome b6/f complex. *Plant Physiology*. 122:505-515
- Andersson, B., Aro, E. M. 2001. Photodamage and D1 protein turnover in photosystem II. En: Aro, E. M., Andersson, B. (eds). *Regulation of photosynthesis*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. pp: 337-393.
- Andrade, J. L., De la Barrera, E., Reyes-García, C., Ricalde, M. F., Vargas-Soto, G., Cervera, J. C. 2007. El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad, fisiología ambiental y productividad. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 81: 37-51.
- Andrade, J. L., Graham, E. A., Zotz, G. 2004. Determinantes morfofisiológicos y ambientales de la distribución de epífitas en el dosel de bosques tropicales. En: Marino-Cabrera, H. (ed.) *Fisiología Ecológica de plantas, mecanismos y respuestas a estrés en los ecosistemas*. Ediciones universitarias de Valparaíso, Chile. pp: 139-156.
- Aro, E. M., Virgin, I., Andersson, B. 1993. Photoinhibition of photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1143: 113-134.
- Azcón-Bieto, J., Talón, M. 2008. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Ed. Mc Graw Hill. pp. 251-252.
- Barker, D. H., Adams, III. W. W. 1997. The xanthophyll cycle and energy dissipation indifferently oriented faces of the cactus *Opuntia* macrorhiza. *Oecologia*. 109: 353-361.
- Barker, D. H., Seaton, G. G. R., Robinson, S. A. 1997. Internal and external photoprotection in developing leaves of the CAM plant *Cotyledon orbiculata*. *Plant, Cell and Environmental*. 20: 617-624
- Barnes, J. D., Cardoso-Vilhena, J. 1996. Interactions between electromagnetic radiation and the plant cuticle. En: Kerstiens, G. (ed.). *Plant cuticles and integrated functional approach*. Environmental Plant Biology. Bios Scientific Publishers Ltd, Oxford, pp: 157-174.
- Barnes, J., Paul, N. D., Percy, K. E., Broadbent, P., McLaughlin, C. K., Mullineaux, P. M., Creissen, G., Wellburn, A. R. 1994. Effects of UV-B radiation on wax biosynthesis. En: Percy, K. E., Cape, J. N. Jagels, R., Simpson, C. J. (eds.). *Air pollutants and the leaf cuticle*, NATO ASI Series. Vol. 36. Springer Verlag, Berlin. pp: 195-205.

- Baum, B. R., Bailey, L. G. 1980. A survey of epicuticular waxes among Triticeae. I. Ultrastructure of glumes and some leaves as observed with the scanning electron microscope. *Canada Journal of Botany*. 58: 2467-2480.
- Baum, B. R., Hadland, V. E. 1973. A scanning electron microscopic study of epicuticular waxes of glumes in *Avena magna*, *A. murphy*, and *A. sterilis*. *Canada Journal of Botany*. 51: 2381-2383.
- Baum, B. R., Hadland, V. E. 1975. The epicuticular waxes of glumes of *Avena* a scanning electron microscopic study of the morphological patterns in all the species. *Canada Journal of Botany*. 53: 1712-1718.
- Baum, B. R., Tulloch, A. P. 1982. A survey of epicuticular waxes among genera of Triticeae. III Synthesis and conclusion. *Canada Journal of Botany*. 60: 1761-1770.
- Benzing, D. H. 1990. *Vascular Epiphytes*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Bondada, B. R., Oosterhuis, D. M., Murphy, J. B., Kim, K. S. 1996. Effect of water stress on the epicuticular wax composition and ultrastructure of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaf, bract, and boll. *Environmental and Experimental Botany*. Bot. 36: 61-69.
- Bowman, R. N. 1983. Intraspecific variability of leaf cuticle alkanes in *Sedum laceolatum* along an elevational gradient. *Biochemical Systematics and Ecology*. 11: 195-198.
- Brown, R. W. 1995. The water relations of range plants: Adaptations to water deficits. p. 291-413. En: *Wildland Plants. Physiological Ecology and Developmental Morphology*. D. J. Bedunah, R. E., Sosebee (eds.). Society for Range Management, Denver, CO.
- Caldwell, M. M., Robberecht, R., Flint, S. D. 1983. Internal filters: prospects for UV acclimation in higher plants. *Physiologia Plantarum*. 58: 445-450.
- Cameron, K. D., Teece, M. A., Smart, L. B. 2006. Increased accumulation of cuticular wax and expression on lipid transfer protein in response to periodic drying events in leaves of tree tobacco. *Plant Physiology*. 140: 176-183
- Cervantes, S. E., Graham, E. A., Andrade, J. L. 2005. Light microhabitats, growth and photosynthesis of an epiphytic bromeliad in a tropical dry forest. *Plant Ecology*. 179: 107-118.
- Chambers, T. C., Possingham, J. V. 1963. Studies of the fine structure of the wax layer of sultana grapes. *Australian Journal of Biological Sciences*. 16: 818-825.
- Clayton, R. K. 1965. Reaction centers of photosynthetic bacteria. *Science*. 149: 1346-1347
- Collados, C. R. 2006. Mecanismos de regulación de la expresión de los genes de las desaturasas de plantas: Adaptabilidad a la luz e influencia de los procesos redox fotosintéticos. Tesis Doctoral. España. pp: 229.

- Cowlshaw, M. G., Bikerstaffe, R., Connor, H. E. 1983. Intraspecific variation in the epicuticular wax composition of four species of *Chionochloa*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 11: 247-259.
- Croteau, R., Fagerson, I. S. 1971. The chemical composition of the cuticular wax of cranberry. *Phytochemistry*. 10: 3239-3245.
- Cutler, D. F., Alvin, K. L., Price, C. E. 1982. The plant cuticle, *Linnean Society Symposium Series*. Vol. 10. Academic Press, London. pp: 139-165.
- D'Haese, D., Vandermeiren, K., Cuabergers, R. J., Guisez, Y., De Temmerman, L., Horeman, N. 2004. Non-photochemical quenching kinetics during the dark to light transition in relation to the formation of antheraxanthin and zeaxanthin. *Journal of Theoretical Biology*. 227: 175-186.
- Day, T. A., Vogelmann, T. C., De Lucia, E. H. 1992. Are some plant life forms more effective than others in screening out ultraviolet-B radiation.? *Oecologia*. 92: 513-519.
- De Mattos, E. A., Grams, T. E. E., Ball, E., Franco, A. C., Haag-Kerwer, A., Herzog, B., Scarano, F. R., Lüttge, U. 1997. Diurnal patterns of chlorophyll a fluorescence and stomatal conductance in species of two types of coastal tree vegetation in southeastern Brazil. *Trees*. 11: 363-369.
- De Ronde, J. A., Cress, W. A., Küger, G. H. J., Strasser, R. J., Van Staden, J. 2004. Photosynthetic response of transgenic soybean plants, containing an Arabidopsis P5CR gene, during heat and drought stress. *Journal of Plant Physiology*. 161: 1211-1224.
- Demmig-Adams, B., Adams, W. W., III. 1992a. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 43: 599-626.
- Demmig-Adams, B., Adams, W. W., III. 1992b. Carotenoid composition in sun and shade leaves of plants with different life forms. *Plant Cell and Environment*. 15: 411-419.
- Denton, M. F. 1994. SEM analysis of leaf epicuticular waxes of *Sedum* section *Gormania* (Crassulaceae). *Brittonia*. 46 (4): 296-308.
- Dyson, W. G., Herbin, G. A. 1986. Studies on plant cuticular waxes - IV. Leaf wax alkanes as a taxonomic discriminant for cypresses grown in Kenya. *Phytochemistry*. 7: 1339-1344.
- Eglinton, G., Gonzalez, A. G., Hamilton, R. J., Raphael, R. A. 1962a. Hydrocarbon constituents of the wax coatings of plant leaves: a taxonomic survey. *Phytochemistry*. 1: 89-102,
- Eglinton, G., Gonzalez, A. G., Hamilton, R. J., Raphael, R. A. 1962b. The alkane constituents of some New Zealand plants and their possible taxonomic implications. *Phytochemistry*. 1: 137-145.
- Ehleringer, J. 1981. Leaf absorptance of Mojave and Sonora desert plants. *Oecologia*. 49: 366-370.
- Ehleringer, J. R. 1984. Ecology and ecophysiology of leaf pubescence in North American desert plants. En: Rodriguez, E., Healey, P. L., Mehta, I. (eds). *Biology and Chemistry of Plant Trichomes*. Plenum Press, New York. pp: 113-132.

- Eigenbrode, S. D., Pillai, S. K. 1998. Neonate *Plutella xylostella* responses to surface wax components of a resistant cabbage (*Brassica oleracea*). *Journal of Chemical Ecology*. 24 (10): 1611-1627.
- Feakins, S. J., Sessions, A. L. 2010. Crassulacean acid metabolism influences D/H ratio of leaf wax in succulent plants. *Organic Geochemistry*. 41: 1269-1276.
- Franco, A. C., Nobel, P. S. 1989. Effect of nurse plants on the microhabitat and growth of cacti. *Journal of Ecology*. 77: 870-886.
- Gandhi, K. N., Gupta, R. L. 1972. Alkanes, alkanols, triterpenes and sterols of *Kalanchoe pinnata*. *Phytochemistry*. 11: 1500-1502.
- Garrido, G. M. 1998. Evaluación del metabolismo ácido de las crasuláceas en tres especies de cactáceas cultivadas *in vitro* y durante su aclimatación a suelo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. UNAM. México. 124pp.
- Gates, B. M., Keegan, H. J., Schleter, J. C., Weidner, V. R. 1965. Spectral properties of plants. *Applied Optics*. 4: 11-20.
- Gibson, A. C., Nobel, P. S. 1986. *The cactus primer*. Cambridge, M. A: Harvard University Press.
- Gibson, M. 1982. The anatomy of succulence. En: Ting, P., Gibbs, M. (eds.). *Crassulacean acid metabolism. Proceedings of the fifth annual symposium in Botany*. Waverly Press. Baltimore.
- González, M. S., Perales, V. H., Salcedo, A. M. 2008. La fluorescencia de la clorofila *a* como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista de Educación Bioquímica*. 27(4): 119-129.
- González, Z. O. 2007. Las crasuláceas cubiertas de cera. *Boletín SUCCUS. Boletín de difusión de la Sociedad Mexicana de Cactología, A. C.* 3 (2): 7
- Goodwin, S. M., Jenks, M. A. 2005. Plant cuticle function as a barrier to water loss. En: Jenks, M. A., Hasegawa, P. M. (eds.). *Plant abiotic stress*. Oxford: Blackwell.
- Gould, K. S., Kuhn, D. N., Lee, D. W., Oberbauer, S. F. 1995. Why leaves are sometimes red. *Nature*. 378: 241-242.
- Govindjee, K., Jan, F., Messinger, J., Whitmarsh, J. 2010. Photosystem II. En: *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*. John Wiley y Sons, Ltd: Chichester.
- Griffiths, H., Smith, J. A. C. 1983. Photosynthetic pathways in the Bromeliaceae of Trinidad: relations between life-forms, habitat preference and the occurrence of CAM. *Oecologia*. 60: 176-184.
- Guhling, O., Hobl, B., Yeats, T., Jetter, R. 2006. Cloning and characterization of a lupeol synthase involved in the synthesis of epicuticular wax crystals on stem and hypocotyl surfaces of *Ricinus communis*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 448: 60-72.

- Gülz, P. G., Müller, E., Schmitz, K., Marner, F. J., Güth, S. 1992. Chemical composition and surface structures of epicuticular leaf waxes of *Ginkgo biloba*, *Magnolia grandiflora* and *Litiodendron tulipifera*. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 47: 516-526.
- Guralnick, L. J., Ting, I. P., Lord, E. M. 1986. Crassulacean acid metabolism in the Gesneriaceae. *American Journal of Botany*. 73 (3): 336-435.
- Haldiman, P., Tsimilli, M. M. 2002. Mercury inhibits the non-photochemical reduction of plastoquinone by exogenous NADPH and NADH: evidence from measurements of the polyphasic chlorophyll a fluorescence rise in spinach chloroplast. *Photosynthesis Research*. 74: 37-50.
- Hall, D. M., Jones, R. L. 1961. Physiological significance of surface wax on leaves. *Nature*. 191: 95-96.
- Hegnauer, R. 1989. *Chemotaxonomie der pflanzen*. Vol. 8. Birkhäuser Verlag, Basel. pp: 84-96.
- Hemmers, H., Gülz, P. G., Marner, F. J. 1988. Triterpenoids in epicuticular waxes of three European *Euphorbia* species. *Zeitschrift für Naturforschung*. 43: 799-805).
- Herbin, G. A., Robins, P. A. 1969. Patterns of variation and development in leaf wax alkanes. *Phytochemistry*. 8: 1985-1998.
- Hernández-González, O., Briones, V. O. 2007. Crassulacean Acid Metabolism Photosynthesis in columnar cactus seedlings during ontogeny: the effect of light on nocturnal acidity accumulation and chlorophyll fluorescence. *American Journal of Botany*. 94 (8): 1344-1351.
- Holmes, M. G., Keiller, D. R. 2002. Effects of pubescence and waxes on the reflectance of leaves in ultraviolet and photosynthetic wavebands: a comparison of a range of species. *Plant, Cell Environment*. 25: 85-93.
- Horn, D. H. S., Kranz, Z. H., Lamberton, J. A. 1964. The composition of *Eucalyptus* and some other leaf waxes. *Australian J. Chem*. 17: 464-476.
- Horn, D. H. S., Lamberton, J. A. 1964. The occurrence of 11,12-dehydrousolic lactone acetate in *Eucalyptus* waxes. *Aust. J. Chem*. 17: 477-480.
- Horrocks, R. L. 1964. Wax and the water vapor permeability of apple cuticle. *Nature*. 203: 547.
- Jefferson, P. G., Johanson, D. A., Runbaugh, M. D., Asay, K. H. 1989. Water stress and genotypic effects on epicuticular wax production of alfalfa and crested wheat grass in relation to yield and excised leaf water loss rate. *Canadian Journal of Plant Science*. 69: 481-490.
- Jeffree, C. E., Johnson, R. P. C., Jarvis, P. G. 1971. Epicuticular wax in the stomatal antechamber of *Sitka spruce* and its effects on the diffusion of water vapour carbon dioxide. *Planta*. 98: 1-10.
- Jenks, M. A., Andersen, L., Teusink, R. S., Williams, M. H. 2001. Leaf cuticular waxes of potted rose cultivars as affected by plant development, drought and paclobutrazol treatments. *Physiologia plantarum*. 112: 62-70

- Jenks, M. A., Ashworth, E. N. 1999. Plant epicuticular waxes: function, production and genetics. Horticultural Reviews. 1-68.
- Jetter, R., Kingler, A., Schäffer, S. 2002. Very long-chain phenylpropyl and phenylbutyl esters from *Taxus baccata* needle cuticular waxes. Phytochemistry. 61: 579-587.
- Ji, X., Jetter, R. 2008. Very long chain alkylresorcinols accumulate in the intracuticular wax of rye (*Secale cereale* L.) leaves the tissue surface. Phytochemistry. 69: 1197-1207.
- Johnson, D. A., Richards, R. A., Turner, N. C. 1983. Cuticular conductance, water use efficiency and drought tolerance of durum wheat isolines of differing glaucousness. Crop Science. 23: 318-325
- Jordan, W. R., Monk, R. L., Miller, F. R., Rosenow, D. T., Clark, L. E., Shouse, P. J. 1983. Environmental physiology of sorghum. I. Environmental and genetic control of epicuticular wax load. Crop Science. 23: 552-558
- Jordan, W. R., Shouse, P. J., Blum, A., Miller, F. R., Monk, R. L. 1984. Environmental physiology of sorghum. II. Epicuticular wax load and cuticular transpiration. Crop Science. 24:1168-1173.
- Karabourniotis, G., Kyparissis, A., Manetas, Y. 1993. Leaf hairs of *Olea europea* protect underlying tissues against ultraviolet-B radiation damage. Environmental and Experimental Botany. 33: 341-345.
- Karabourniotis, G., Papadopoulos, K., Papmarkou, M., Manetas, Y. 1992. Ultraviolet-B absorbing capacity of leaf hairs. Physiologia Plantarum. 86: 414-418.
- Kerstiens, G. 1996. Cuticular water permeability and its physiological significance. Journal Experimental Botany. 47: 1813-1832.
- Kim, K. S., Park, S. H., Jenks, M. A. 2007. Changes in leaf cuticular waxes of sesame (*Sesamum indicum* L.) plants exposed to water deficit. Journal of Plant Physiology. 164: 1134-1143.
- Kitao, M., Lei, T. T., Koike, T. 1997. Comparison of photociduous broad-leaves trees in northern Japan. Environmental pollution. 97: (1-2): 113-118.
- Kolattukudy, P. E. 1980. Cutin, suberin and waxes. En: Stumpf, P. K., Conn. E. E. (eds). The Biochemistry of Plants Vol. 4. Academic Press. New York. pp: 571-645.
- Kranz, Z. H., Lamberton, J. A., Murray, K. E., Redcliffe, A. H. 1961. Studies in waxes. XIX. The stem wax of the grass *Leptochloa digitata*. Australian Journal of Chemistry. 14: 264-271.
- Krause, G. H., Weis, E. 1997. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basis. Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol. 42: 313-349.
- Krüger, G. H., Tsimilli, M. M., Srasser, R. J. 1997. Light stress provokes plastic and elastic modification in structure and function of photosystem II in camellia leaves. Physiologia Plantarum. 101: 265-277.
- Kunst, L., Samuels, A. L. 2003. Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax. Progress in Lipid Research. 42: 51-80.

- Larcher, W. 2003. *Physiological Plant Ecology, Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups*. Springer, Berlin.
- Letchamo, W., Gosselin, A. 1996. Transpiration, essential oil glands, epicuticular wax and morphology of *Thymus vulgaris* influenced by light intensity and water supply. *The Journal of Horticultural Science y Biotechnology*. 71: 123-134
- Leyton, L., Juniper, B. E. 1963. Cuticle structure and water relations of pine needles. *Nature*. 198: 770-771
- Logan, B. A., Barker, D. H., Demmig-Adams, B., Adams, W. W. III. 1996. Acclimation of leaf carotenoid composition and ascorbate levels to gradient in the light environment within an Australian rainforest. *Plant Cell and Environment*. 19: 1083-1090.
- Lüttge, U. 2004. Ecophysiology of crassulacean acid metabolism (CAM). *Annals of Botany*. 93: 624-652.
- Mahadev, B. C., Nobel, P. S. 1987. High-temperature sensitivity and its acclimatation for photosynthetic electron transport reactions of desert succulents. *Plant Physiology*. 84: 1063-1067.
- Mandujano, P. M. 1988. Respuesta fotosintética (Metabolismo Ácido de las Crasuláceas) en *Escontria chiotilla* (Weber Rose) en ambiente controlado. Tesis Licenciatura. UNAM. México. pp. 51.
- Manheim, B. S., Mulroy, T. W. 1978. Triterpenoids in epicuticular waxes of *Dudleya* species. *Phytochemistry*. 17: 1799-1800.
- Manheim, B. S., Mulroy, T. W., Hogness, D. K., Kerwin, J. L. 1979. Interspecific variation in leaf wax of *Dudleya*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 7: 17-19.
- Medina, E. 1977. Introducción a la ecofisiología vegetal. Dpto. de Asuntos científicos de la Sría. General de la O. E. A. Washington, D. C.
- Medina, E. 1989. Metabolismo ácido de las crasuláceas en bosques húmedos tropicales. Monograph in systematic Botany from the Missouri. *Botanical Garden*. 27: 56-67.
- Medina, E., Olivares, E., Díaz, M., Van der Merwe, N. 1989. Metabolismo ácido de las Crasuláceas en bosques húmedos tropicales. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Gardern. USA. 27: 56-67.
- Min-Wha, J., Mohammad, B. A., Eun-Joo, H., Kee-Youep, P. 2005. Effects of photon flux density on the morphology, photosynthesis and growth of CAM orchid, *Doritaenopsis* during post-micropropagation acclimatization. *Plant Growth Regulation*. 45: 139-147.
- Mooney, H. A., Ehleringer, J., Björkman, O. 1977. The energy balance of leaves of the evergreen shrub *Atriplex hymenelytra*. *Oecologia*. 29: 301-310.
- Müller, C., Riederer, M. 2005. Plant surface properties in chemical ecology. *Journal of Chemical Ecology*. 31 (11): 2621-2651

- Nobel, P. S. 1981. Influences of photosynthetically active radiation on cladode orientation, stem tilting and height of cacti. *Ecology*. 63: 982-990.
- Nobel, P. S. 1988. *Environmental Biology of Agaves and Cacti*. Cambridge University Press, New York.
- Nobel, P. S., Hartsock, 1981. Shifts in the optimal temperature for nocturnal CO₂ uptake caused by changes in growth temperature for cacti and agaves. *Physiol. Plant*. 53: 523-527.
- Nobel, P. S., Hartsock, T. L. 1979. Environmental influences on open stomates of a Crassulacean Acid Metabolism. Plant, *Agave deserti*. *Plant Physiology*. 63: 63-66.
- Nobel, P. S., Hartsock, T. L. 1983. Relationships between photosynthetically active radiation nocturnal acid accumulation, and CO₂ uptake for a crassulacean acid metabolism plant, *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiology*. 71: 71-75.
- Nobel, P. S., Hartsock, T. L. 1990. Diel patterns of CO₂ exchange for epiphytic acid differing in succulence. *Physiologia plantarum*. 78: 628-634.
- Osmond, C. B. 1978. Crassulacean Acid Metabolism: a curiosity in context. *Annual Review of Plant Physiology*. 29: 379-414.
- Osmond, C. B., Holtum, J. A. M. 1981. Crassulacean acid metabolism. En: Hatch, M. D., Boardman, N. K.. *The Biochemistry of plant: A comprehensive treatise*. London/New York Academic. 8: 283-328.
- O'toole, J. C., Cruz, R. T. 1983. Genotypic variation in epicuticular wax of rice. *Crop Science*. 23: 392-394.
- O'toole, J. C., Cruz, R. T., Seiber, J. B. 1979. Epicuticular wax and cuticular resistance in rice. *Physiology Plantarum*. 47: 239-244.
- Pérez, C. J. 2007. *Echeveria laui* a treinta años de su descubrimiento. Conservación y Cultivo. *Boletín SUCCUS*. Boletín de difusión de la Sociedad Mexicana de Cactología, A. C. 3 (2): 13
- Pimienta-Barrios, E., Zañudo, J., Yopez, E., Nobel, P. S. 1998. Vegetative, reproductive, and physiological adaptations to aridity of pitayo (*Stenocereus queretaroensis*, Cactaceae). *Economic Botany*. 52, 401-411.
- Piña, P. P. 2003. Propagación de *Echeveria laui* Moran y Meyrán (CRASSULACEAE) con fines de conservación y reintroducción. Tesis de Licenciatura. UNAM. México. 75pp.
- Piña-Poujol, P., Valverde, T., Reyes-Santiago, J. 2007. Propagación de la especie en peligro de extinción *Echeveria laui* con fines de conservación. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 52 (1): 4-19.
- Premchandra, G. S., Saneoka, H., Fujita, K., Ogata, S. 1992. Leaf water relations, osmotic adjustment, cell membrane stability, epicuticular wax load and growth as affected by increasing water deficit in sorghum. *Journal of Experimental Botany*. 43: 1569-1576.

- Proksch, P., Sternburg, C., Rodriguez, E. 1981. Epicuticular alkanes from desert plants of Baja California. *Biochemical Systematics and Ecology*. 9: 205-206.
- Queiroz, O., Brulfert, J. 1982. Photoperiod-controlled induction and enhancement of seasonal adaptation to drought. En: Ting, P. I., Gibbs, M. *Crassulacean Acid Metabolism*. Rockville American Society of Plant Physiology. pp: 208-230.
- Radler, F. 1965. The surface waxes of the sultana vine. *Australian Journal of Biological Sciences*. 18: 1045-1056.
- Reicosky, D. A., Hanover, J. W. 1978. Physiological effects of surface waxes I. Light reflectance for glaucous and nonglucous *Picea pungens*. *Plant Physiology*. 62: 101-104.
- Reyero, S. M. R. 2009. Determinación de la dinámica estomática de *Echeveria laui* (CRASSULACEAE) en individuos obtenidos de propagación vegetativa y sexual. Tesis de Licenciatura. UNAM. México. 92pp.
- Reyes, S. J., Brachet, I. C., Pérez, C. J., Gutiérrez de la Rosa, A. 2004. Cactáceas y Otras Plantas nativas de la cañada Cuicatlán, Oaxaca. Ed. Soc. Mex. De Cact. A. C. México. pp. 196.
- Riederer, M., Markstädter, C. 1996. Cuticular waxes: a critical assessment or current knowledge. pp: 189-200. En: Kerstiens, G., *Plant Cuticles. An integrated Functional approach*. BIOS. Scientific Publishers, Oxford.
- Robberecht, R., Caldwell, M.M., Billings, W. D. 1980. Leaf ultraviolet optical properties along a latitudinal gradient in the arctic-alpine life zone. *Ecology* 61: 612-619.
- Robinson, S., Lovelock, C. E., Osmond, C. B. 1993. Wax as a mechanism for protection against photoinhibition. A study of *Cotyledon orbiculata*. *Botanica acta*. 106: 307-312.
- Rost., T. L. 1969. Vascular pattern and hydathodes in leaves of *Crassula argentea* (Crassulaceae). *Botanical Gazette*. 130 (4): 267-270.
- Samdur, M. Y., Manivel, P., Jain, V. K., Chikani, B. M., Gor, H. K., Desai, S. 2003. Genotypic differences and water-deficit induced enhancement in epicuticular wax load in peanut. *Crop Science*. 43: 1294-1299.
- Sánchez, F. J., Manzanares, M., de Andres, E. F., Tenorio, J. L., Ayerbe, L. 2001. Residual transpiration rate, epicuticular wax load and leaf colour of pea plants in drought conditions. Influence on harvest index and canopy temperature. *European Journal of Agronomy*. 15: 57-70.
- Sánchez, M. M. L. 2010. Patrones electroforéticos de proteínas durante la formación de brotes de hoja de *Echeveria laui* (Crassulaceae). Tesis Licenciatura. UNAM. México. 55pp.

- Segura, U. J. 2010. Caracterización de los efectos del Ni²⁺ en la fotosíntesis, captación de iones y en las enzimas antioxidativas en frijol común *Phaseolus vulgaris* y en frijol mungo *Vigna radiata*. Tesis Licenciatura. UNAM. México. Pp: 19
- Siems, K., Jas, G., Arriaga-Giner., F. J., Wollenweber, E., Dörr, M. On the chemical nature of epicuticular waxes in some succulente *Kalanchoe* and *Senecio* species. *Zeitschrift für Naturforschung*. 50: 451-454.
- Silva, H., Acevedo, E., Silva, P. 2001. Anatomía del tejido fotosintético de diez taxa de *Opuntia* establecidos en el secano árido mediterráneo de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*. 74 (2): 341-351.
- Skaltsa, H., Verykokidou, E., Harvala, C., Karabourniotis, G., Manetas, Y. 1994. UV-B protective potential and flavonoid content of leaf hairs of *Quercus ilex*. *Phytochemistry*. 37: 987-990.
- Skoss, J. D. 1955. Structure and composition of plant cuticle in relation to environmental factors and permeability. *Botanical Gazette*. 117: 55-72.
- Stevens, J. F., Hart, H., Bolck, A., Zwaring, J. H., Malingré, T. M. 1994. Epicuticular wax composition of some european *Sedum* species. *Phytochemistry*. 35(2): 389-398.
- Szarek, S. R., Ting, I. P. 1975. Physiological Response to rainfall in *Opuntia basilaris* (Cactaceae). *American Journal of Botany*. 62 (6): 602-609.
- Taiz, L., Zeiger, E. 2002. *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts.
- Thayer, S. S., Björkman, O. 1990. Leaf xanthophyll content and composition in sun and shade determined by HPLC. *Photosynthesis Research*. 23: 331-343.
- Ting, I. P., Szarek, S. R. 1975. Drought adaptation in crassulacean acid metabolism plants. En: Halley, N. (ed.) *Environmental physiology of desert organisms*. Springer-Verlag, Berlín, Germany. pp: 1-358.
- Ting, P. I., Gibbs, M. 1982. Crassulacean acid metabolism. *Proceedings of the fifth annual symposium in botany*. Waverly Press. California.
- Ting, P. I., Rayder, L. 1985. Regulation of C₃ to CAM shifts. En: Ting, P., Gibbs, M. (eds.). *Crassulacean acid metabolism. Proceedings of the fifth annual symposium in Botany*. Waverly. Press. California. pp: 193-209.
- Tulloch, A. P., Hoffman, L. L. 1977. Composition of epicuticular waxes of some grasses. *Canadian Journal of Botany*. 55: 853-857.
- Uddin, M. N., Marshall, D. R. 1988. Variation in epicuticular wax content in wheat. *Euphytica*. 38: 3-9.

- Upadhyaya, M. K., Furness, N. H., 1994. Influence of light intensity and water stress on leaf surface characteristics of *Cynoglossum officinale*, *Centaurea* spp. and *Tragopogon* spp. *Canadian Journal of Botany*. 72: 1379-1386.
- Váldes, L. O. 2005. Caracterización de los efectos del Cr y Mn en la fotosíntesis y en los niveles de pigmentos y osmolitos compatibles de *Phaseolus vulgaris*, *Vigna radiata* y *Medicago sativa*. Tesis de Licenciatura. UNAM. pp: 84.
- Van Assche, F., Clijsters, H. 1990. Effect of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environ*. 13: 195-206.
- van Maarseveen, C. y Jetter, R. 2009. Composition of the epicuticular and intracuticular wax layers on *Kalanchoe daigremontiana* (Hamet et Perr. De la Bathie) leaves. *Phytochemistry*. 70: 899-906
- Vázquez-Yanes, C. 1997. Extraordinarias administradoras de agua. En: Valles-Septién, C., Rodríguez-Pérez, L. (eds.) *Suculentas mexicanas: cactáceas*. México, DF: CONABIO-CVC Publicaciones. pp: 49-53.
- Verastegui, V. M. 2009. Establecimiento de Métodos de Propagación Vegetativa *in vivo* e *in vitro* de *Echeveria laui* (CRASSULACEAE). Tesis de Licenciatura. UNAM. México. 65pp.
- Vogelmann, T. C. 1993. Plant Tissue Optics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 44: 231-251.
- Walther, E. 1972. *Echeveria*. California Academy of Sciences. San Francisco, USA.
- Winter, K., Smith, J. A. C. 1996. An introduction to crassulacean acid metabolism: biochemical principles and biological diversity. En: Winter, K., Smith, J. A. C. (eds). *Crassulacean Acid Metabolism. Biochemistry, Ecophysiology and Evolution*. Berlin. pp: 1-13.
- Wojciechowicz, M. K., Kazimierzak-Grygiel, E., Olejnik, S., Zenkteler, E. 2001. Plant regeneration from leaf explants of *Adromischus nussbaumerianus* Poelln and *Echeveria laui* Moran et Meyran. *Biological Bulletin of Poznan*. 38: (1): 71-78
- Wollenweber, E., Dietz, V. H. 1981. Occurrence and distribution of free flavonoid aglycones in plants. *Phytochemistry*. 20 (8): 869-932.
- Wollenweber, E., Doerr, M., Siems, K., Faure, R., Bombarda, I., Gaydor, E. M. 1999. Triterpenoids in lipophilic leaf and stem coatings. *Biochemical Systematics and Ecology*. 27: 103-105.
- Zhang, J. Y., Broeckling, C. D., Blancaflor, E. B., Sledge, M. K., Summer, L. W., Wang, Z. Y. Overexpression of WXP1 a putative *Medicago trunculata* AP2 domain-containing transcription factor gene, increases cuticular wax accumulation and enhances drought tolerance in transgenic alfalfa (*Medicago sativa*). *The Plant journal: for cell and molecular biology*. 42: 689-707
- Zotz, G., Hietz, P. 2001. The physiological ecology of vascular epiphytes: current knowledge, open questions. *Journal of Experimental Botany*. 52: 2067-2078.