



El Colegio de la Frontera Sur

Estudio fisiológico de *Vanilla planifolia* Andrews  
(Orchidaceae), cultivada en un sistema agroforestal en  
Ixtacomitán, Chiapas, México.

TESIS

Presentada como requisito parcial para optar al grado de  
Maestría en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural

por

José Padilla Vega

2010

## **AGRADECIMIENTOS**

Al pueblo de México por brindar su apoyo para que la educación siga siendo gratuita y se mantenga así en este país. Es la mejor inversión que se puede hacer.

A El Colegio de la Frontera Sur y CONACYT por haberme dado la oportunidad de realizar mis estudios de Maestría en Ciencias.

Al Colegio de Postgraduados Campus Tabasco por haber proporcionado el equipo necesario para la realización de este trabajo. En particular a la Dra. Luz del Carmen Lagunes Espinoza y al M.C. Arnulfo Triano Sánchez.

En especial a mi comité tutorial por sus apoyos y observaciones a este trabajo. Así también, agradezco al Dr. José Luis Andrade por su desinteresado pero fundamental aporte.

También al Sr. Tito Adán Jiménez Rodríguez y su apreciable familia por los apoyos brindados para la utilización de la parcela experimental.

A Beatriz Romero López por su ágil y servicial apoyo desde la oficina de servicios escolares del ECOSUR Unidad Tapachula.

De igual manera a mis compañeros de maestría por esos ratos tan agradables y de estudio compartidos, sigan adelante.

Y por último a la Universidad Intercultural del Estado de Tabasco por los permisos otorgados para la culminación de mis estudios de Maestría.

## DEDICATORIA

Con afecto y cariño a:

María de Jesús Vega Pérez y Trinidad Padilla Islas, por haber afrontado el reto más grande de la vida, ser padres.

A:

Montserrat Fernández López, *jk'anojot-tajyalel*.

También a mis hermanos:

Blanca Estela, Ángel Julián, José Trinidad y Eduardo, que si bien diferimos en muchos aspectos, siempre son mi referencia de vida.

Y a mis sobrinos:

Guadalupe y Juan Diego, a quienes digo, que la vida comienza cuando empiezas a vivirla crítica y propositivamente.

## CONTENIDO

Índice de cuadros	i
Índice de figuras	i
Resumen	ii
<b>I INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II ANTECEDENTES</b>	4
2.1 Descripción botánica	4
2.2 Condiciones de cultivo	5
2.3 Comercialización y costos de producción	6
2.4 Química de la vainilla	10
2.5 Nutrición en epifitas y hemiepifitas	14
<b>III OBJETIVO</b>	18
3.1 Objetivos específicos	18
<b>IV METODOLOGÍA</b>	19
4.1 Área de estudio	19
4.2 Manejo de la plantas de vainilla	
4.3 Mediciones del rango fotosintético ( $A$ ) y transpiración ( $g_s$ )	21
4.4 Flujo de fotones para fotosíntesis (FFF) en el agroecosistema	22
4.5 Análisis de tejido vegetal	23
4.6 Análisis edafológico	24
4.7 Análisis estadístico	25
<b>V RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	26
5.1 Flujo de fotones para fotosíntesis (FFF) sobre las plantas y rango fotosintético ( $A$ ) de <i>V. planifolia</i>	26
5.2 Análisis del rango de asimilación de $CO_2$ ( $g_s$ ) en <i>V. planifolia</i>	28
5.3 Análisis del material foliar de <i>V. planifolia</i>	31
5.4 Análisis de raíces aéreas y terrestres	34
5.5. Análisis edafológico del sistema agroforestal	36
<b>VI CONCLUSIONES</b>	40
<b>VII RECOMENDACIONES</b>	42
<b>VIII LITERATURA CITADA</b>	43
<b>IX ANEXOS</b>	52

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Partes de la planta de <i>V. planifolia</i> .	4
Figura 2	Fluctuaciones en el precio de la vainilla.	8
Figura 3	Área cultivada y cosechada de vainilla en México.	9
Figura 4	Principales componentes de la vainilla.	10
Figura 5	Diagrama de flujo de las principales interacciones del sistema agroforestal de Ixtacomitán, Chiapas.	20
Figura 6	Flujo de fotones para fotosíntesis (FFF) y rango fotosintético ( <i>A</i> ) en hojas 5 y 18 de las plantas de vainilla.	26
Figura 7	Asimilación de CO <sub>2</sub> para los meses de julio-enero en plantas de <i>V. planifolia</i> .	30
Figura 8	Concentración de N, P, K en raíces de <i>Vanilla planifolia</i> .	35
Figura 9	Concentración de Mg, Na y Ca en raíces aéreas y terrestres de las plantas de <i>V. planifolia</i> en diferentes concentraciones de flujo de fotones para fotosíntesis.	35
Figura 10	Resultado de pH del suelo donde se tiene cultivada la <i>Vanilla planifolia</i> .	37
Figura 11	Porcentaje de materia orgánica en el suelo.	38

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Especificaciones de la vainilla por grado de calidad y tipo.	7
Tabla 2	Producción mundial en toneladas de vainilla beneficiada.	8
Tabla 3	Principales componentes en vainas curadas	11
Tabla 4	Biotransformación para la obtención de vanillin a partir de microorganismos	12
Tabla 5	Resumen de requerimientos energéticos de fijación de tres moléculas de CO <sub>2</sub> por diferentes vías	16
Tabla 6	Análisis y técnica correspondientes al material vegetal	24
Tabla 7	Análisis y técnica correspondientes al suelo	24
Tabla 8	Promedio de los análisis foliares por condición de luz	31
Tabla 9	Microelementos en las raíces de vainilla	38

## RESUMEN

El cultivo de *Vanilla planifolia* ha sido muy importante en México principalmente para la región del Totonacapal, que abarca la sierra norte de Puebla hasta el noroeste Veracruz, lugar del centro de la domesticación de esta orquídea. En la época de los 50 fue uno de los cultivos más importantes a nivel nacional, pero a finales de los 60, la superficie sembrada declinó en un 80% debido a la introducción en el mercado de saborizantes artificiales de menor costo, por lo que muchos agricultores decidieron reconvertir sus vainillares a zonas de pastoreo, cultivos de naranja o cafetales. Sin embargo, actualmente se demandan cantidades importantes de vainilla natural (15,000 t año<sup>-1</sup>) ya que el extracto sintético contiene saborizantes artificiales condicionantes de cáncer. Dada la poca superficie cultivada de vainilla que existe en el país el incremento de su demanda ha motivado la sobreexplotación de las poblaciones naturales para la extracción de esquejes y establecimiento de plantaciones. A pesar de la creciente necesidad de vainilla y el potencial de desarrollo que tiene este cultivo en México la producción es apenas 1.1% de la mundial. En el estado de Chiapas, existen condiciones edafo-climáticas favorables para el desarrollo de la vainilla en sistemas agroforestales. En el Municipio de Ixtacomitán se desarrollan importantes actividades agrícolas dentro de las que destacan la producción de cacao orgánico, flores orgánicas bajo agroecosistemas maderables y ahora el cultivo de vainilla en ambientes diversificados, aunque desafortunadamente en la zona no hay experiencia previa en el manejo de ésta hemiepífita, razón por la que este trabajo tuvo como objetivo evaluar las respuestas fisiológicas de la *Vanilla planifolia* en un sistema agroforestal, así como también realizar un diagnóstico de fertilidad del suelo donde se desarrolla este cultivo. El estudio abarcó un ciclo de producción desde la etapa post-floración hasta floración. Los principales resultados indican que *Vanilla planifolia* presenta rangos fotosintéticos correspondientes a una planta CAM y que tanto hojas jóvenes como viejas son fotosintéticamente activas, por lo que se recomienda que el tutoreado sea horizontal y no vertical, eso ayudará a la eficiencia fotosintética de la planta, lográndose con ello una mayor productividad. El sistema agroforestal de cacao diversificado resulta ser favorable para la producción de vainilla.

**Palabras clave:** fertilidad, nutrición, flujo de fotones, hemiepífita.

## I INTRODUCCIÓN

En el trópico cálido húmedo de México existen diferentes sistemas agroforestales como cacao, café, milpa, hule, cedro en camellones entre otros, pero cada uno de ellos confiere una dinámica única de absorción nutrimental y degradación de la materia orgánica. Estas características únicas de los sistemas agroforestales son propiciadas indirectamente por los productores quienes determinan la cantidad de plantas por hectárea, la tolerancia hacia ciertos tipos de malezas, la competencia entre especies vegetales de interés comercial que se hayan introducido en los sistemas agroforestales, y los hábitos de crecimiento de las plantas que se encuentran en la parcela (Altieri, 1999). Todas estas actividades confieren un dinamismo especial en la nutrición de las plantas y competencia por luz que se da en los sistemas agroforestales. En la actualidad, dichos sistemas pueden ser clasificados de diferentes maneras según las especies más abundantes. Para el caso de este estudio se trabajó en una parcela de cacao diversificado, donde el manejo de la sombra es importante para determinar que especies pueden ser introducidas y para el manejo de enfermedades (Sánchez *et al.*, 2003). Actualmente se sabe que hay factores determinantes en la producción de los sistemas agroforestales, uno de ellos es la disponibilidad de luz y otro es la disponibilidad de nutrimentos en el suelo (Montagnini, 1992). Como consecuencia de la competencia entre plantas y la gran variedad de condiciones ambientales, algunas especies han evolucionado a plantas epífitas o hemiepífitas cuyos hábitos de crecimiento no dependen directamente del suelo, algunas tienen gran rango de tolerancia a la sombra de otras especies (Nobel, 1991; Canham *et al.*, 1994, Valladares, 2001) y han desarrollado el Metabolismo Ácido de las Crasuláceas (CAM) que permite a las plantas asimilar el CO<sub>2</sub> en la noche (Nelson y Sage, 2008). Las plantas tropicales que han desarrollado estas estrategias de sobrevivencia son las Bromeliáceas, Cactáceas y Orquidáceas, y en esta última familia se encuentra la vainilla.

La vainilla es una especie con alta demanda en el mercado ya que el producto natural está compuesto de vainillina que es un complejo orgánico con más de 65 compuestos volátiles que le confiere propiedades organolépticas únicas. Además, algunos productos de vainillín sintético utilizan cumarina, un fenol que es un poderoso anticoagulante, ingrediente activo de numerosos venenos para ratas, también se usa en

medicinas para humanos como un agente adelgazante de la sangre (Ames *et al.*, 1990). Se ha reportado que la cumarina causa cáncer del conducto biliar de las ratas y la difusión de estas propiedades ha puesto en alerta a los consumidores. Por esta razón, la vainilla natural ha tenido un incremento importante en cuanto a costo, cerrando para 2007 a US\$ 5,138.17 el precio de la tonelada de vainilla beneficiada (FAO, 2007) y este precio ha llamado la atención de muchos productores en el país.

Soto-Arenas (2006) comentó que la vainilla, al igual que muchos otros recursos naturales de México, es sobreexplotada y subutilizada; sobreexplotada porque las poblaciones silvestres han sido diezmadas con la colecta excesiva para establecer plantaciones hasta el punto de que la especie está en severo peligro de extinción, tal como ocurre con otras especies de plantas epífitas usadas en el mercado hortícola; subutilizada porque no se ha hecho un manejo adecuado que explote el máximo potencial en producción de este cultivo, pues en el país sólo se produce cerca de 1% de la producción mundial. De tal forma que en México no se ha sabido aprovechar esta ventaja con respecto a los demás países, es decir, la diversidad genética de la especie para hacer fitomejoramiento y la comercialización con denominación de origen.

Por tales motivos los productores de cacao han tratado de propagar la vainilla en sus cacaotales, aprovechando las condiciones ambientales que esos sistemas ofrecen. También, la vainilla tiene una respuesta favorable en los sistemas agroforestales de naranja, ya que no se limita su desarrollo y resulta ser mejor que en ambientes controlados (Barrera-Rodríguez *et al.*, 2009). Por la similitud de los sistemas de producción de árboles de naranja con los de cacao se cree que la vainilla puede tener gran éxito de producción. Un factor relacionado con el óptimo desarrollo de la vainilla es su resistencia y éxito en la colonización de nuevos agroecosistemas (Hernández-Apolinar, 1997) y algunos trabajos han demostrado que puede ser eficiente la asimilación de nutrimentos. La importancia de los macro y micro elementos en las plantas de *V. planifolia* no se han determinado y menos cuales son los niveles óptimos, medios, bajos o críticos. La vainilla es una planta compleja, al ser una hemiepífita, una orquídea, trepadora y con un ritmo fotosintético CAM. La evolución del hemiepifitismo ha ayudado a la vainilla en algunos aspectos a sobrevivir en medios hostiles y de alta competencia (Castillo y Marck-Engleman, 1993), en los cuales la retención de



humedad y nutrimentos es fundamental para la sobrevivencia de los individuos. El amarre de fruto y calidad del mismo están relacionados con el estado nutricional de las plantas, como se ha demostrado en el trabajo de Hernández y Morales (2000), donde se señala que están ligados a la disponibilidad de nutrimentos al registrar mayor productividad (40% más) en los tratamientos donde la fertilización se realizó, en comparación a los que no fueron fertilizados.

## II ANTECEDENTES

### 2.1 Descripción botánica

La planta de vainilla es perenne, trepadora y de tallo flexible, cilíndrico, simple o ramificado, de color verde y está formado por entrenudos de cinco a 15 cm de longitud y de uno a dos centímetros de diámetros dispuestos en zigzag (Loredo, 1990, citado por Domínguez, 2005).

Soto-Arenas (2006) describió la inflorescencia como racimos de 15 o 20 botones florales, de uno, dos y hasta tres flores abiertas a la vez, de color amarillo y verde olivo claro. Las flores están compuestas por un sépalo dorsal, dos sépalos laterales, dos pétalos y un labelo fusionado a la columna (Figura 1). Los granos de polen se presentan en mónadas, sin formar un polinario definido como en el caso de la mayoría de las orquídeas, pero formando una masa granulosa, amorfa y pegajosa.

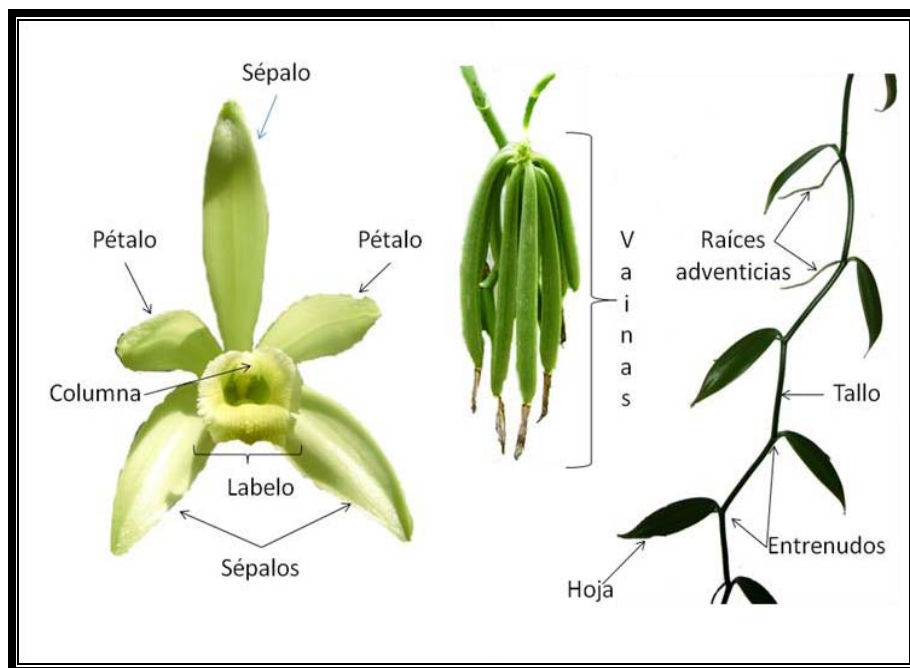


Figura 1. Partes de la planta de *V. planifolia*

Las hojas de la vainilla son elípticas subsésiles y subpeciadas de 10 a 15 cm, con tallos glaucos, ligeramente papilosos y con textura succulenta.

Las raíces son adventicias originadas en partes enterradas o aéreas que brotan de entrenudos. Las raíces aéreas son cortas y glabras y sin ramificaciones o pelillos absorbentes a menos de que éstas toquen el suelo, mientras que las raíces que han tocado suelo o están adheridas a la corteza de algún árbol son largas con pelos absorbentes, ramificadas y crecen entre la hojarasca. Con las raíces aéreas la planta puede trepar los árboles y otros soportes, mientras que con las terrestres se alimenta. Según Alconero (1968), estas últimas crecen a una profundidad de cinco a 10 cm y un radio de 1.20 m, aunque los trabajos de Sánchez (1997) mencionan que la distancia de crecimiento depende mucho del sistema de producción en el que se encuentren.

El fruto es una cápsula dehiscente que presenta tres costados cóncavos en forma cilíndrica, de color verde brillante cuando está inmaduro y se torna de amarillo a café conforme va madurando, puede medir de 15 a 25 cm de largo y de diez a 15 mm de diámetro y dentro puede tener hasta 100,000 semillas que van de 0.25 a 0.312 mm (Parra, 1987).

## **2.2 Condiciones de cultivo**

El intervalo de temperatura donde la vainilla puede desarrollarse adecuadamente debe comprender un mínimo de 5 a 7°C, siempre y cuando no correspondan a periodos muy prolongados; la temperatura de 21-27°C es la óptima y la máxima no debe exceder los 32°C (Montoya, 1963).

El intervalo altitudinal para el cultivo de vainilla va de 0 a 600 m.s.n.m. y se requiere una precipitación anual de 2,000 mm ó más distribuida en todo el año. El suelo debe contener una buena cantidad de materia orgánica y un drenaje que permita el flujo eficiente del agua a través de él, se recomienda que el pH sea de 6 a 7 para evitar problemas de baja disponibilidad de macroelementos y que la planta sea orientada hacia el este para aprovechar los rayos del sol matutinos. La humedad relativa debe ser mayor al 80% pero con buena aeración para evitar brotes de hongos, por lo que la poda de los tutores y deshierbe es fundamental (INIFAP, 1993).

El cultivo de la vainilla se desarrolla por lo general bajo algún sistema de acahual, agroforestal o bajo ambientes controlados; el primero es el conjunto de vegetación secundaria, sin arreglo espacial agronómico, donde destacan las leñosas medianamente maduras o maduras siendo éstas de gran importancia ecológica (Wu y Moris, 2001). Los sistemas agroforestales son formas de uso y manejo de los recursos naturales en los cuales las especies leñosas (árboles y arbustos), son utilizados en la asociación deliberada con cultivos agrícolas anuales y en ocasiones hasta con animales (Montagnini, 1992), estos dos sistemas pueden albergar de 3,000 a 5,000 plantas ha<sup>-1</sup>. En cuanto a los sistemas intensivos o controlados, se pueden introducir de 7,000 a 10,000 plantas ha<sup>-1</sup> (comunicación personal Mario Martínez, 2009) y se utilizan como tutores trozos de bambú, alambre o rollos de materia orgánica con una malla sombra para proteger las plantas del exceso de insolación. Este sistema ofrece a los productores aproximaciones a una productividad segura, debido a que se mantienen controlados diferentes factores de la producción como son; fertilización, manejo de plagas y enfermedades, robo, tutorado y control contra roedores o aves. Sin embargo, los sistemas intensivos tienen su lado desfavorable ya que difícilmente pueden albergar vida silvestre, a diferencia de los otros dos, y además, no pueden ser certificados como orgánicos (Naturland, 2000). En su mayoría, la producción de la vainilla se obtiene de forma tradicional, es decir, en ambientes diversificados, poco tecnificados y muy demandantes de mano de obra. Algunos estudios en las áreas de producción de Sulawesi, Indonesia demuestran la permanencia del cultivo de cacao diversificado con especies de alta importancia, entre ellas la vainilla, ésta representa el 0.28 % del ingreso total a las familias campesinas (Brodbeck *et al.*, 2003).

### **2.3 Comercialización y costos de producción**

El precio de venta de la vainilla depende de varios factores, entre ellos los ambientales estocásticos como la presencia de huracanes, tormentas y sequías. Un factor poco valorado y tomado en cuenta es la baja disponibilidad de nutrientes, esto limita la comercialización ya que al no estar bien nutrida la planta, generará vainas pequeñas de menor valor en el mercado. Factores antropogénicos, tales como una huelga de productores (poco frecuente, pero no se descarta la posibilidad en países como Indonesia y Madagascar, donde la producción es pre-pagada) o el cambio repentino de hábitos de consumo de vainilla

también afectarían drásticamente el precio de la misma (Figura 4). Por último, la calidad de la vaina es muy importante y ésta es definida por un número importante de variables como se muestra en la Tabla 1. En su mayoría estas variables dependen principalmente del manejo postcosecha, ya que durante la etapa de producción solo se pueden manejar algunos aspectos como el tener vainas sin lesiones físicas y con el tamaño adecuado según el mercado, esto se puede lograr eliminando algunas vainas y no polinizando todas las flores del ramillete, para las que se queden tengan mayor aporte de nutrimentos y puedan desarrollarse mejor.

Tabla 1. Especificaciones de la vainilla por grado de calidad y tipo

Especificación	Grado de calidad					
	Extra	Categoría I		Categoría II		Categoría III
	Gourmet	Gourmet	Ordinaria	Gourmet	Ordinaria	Ordinaria
Descripción	Gruesa sin rayas ni manchas, flexible y brillante	Gruesa sin rayas ni manchas, flexible y brillante	Delgada, con rayas puede estar rajada	Gruesa, sin rayas ni manchas, flexible y brillante	Delgada con rayas, puede estar rajada	De cualquier grosor, puede estar rajada o rayada
Humedad (%)	25 a 30	25 a 30	20 a 24	25 a 30	20 a 24	15 a 20
Vanillin (%)	2,0 a 2,4	2,0 a 2,4	1,6 a 2,0	2,0 a 2,4	1,6 a 2,0	1,6
Tamaño(cm)	≥20	≥17,5	≥17,5	≥15	≥15	≤15

Fuente: Secretaría de Economía (MNX-FF-074-SCFI-2009)

Dentro de los principales países productores en el mundo se encuentra Indonesia, que durante el periodo 2004-2007 (Tabla 2) se mantuvo como el productor número uno a nivel mundial, cerrando para el 2007 con 3,700 toneladas de vainilla beneficiada. La producción mundial se estimó para el 2007 en 6,175 toneladas, registrándose una pérdida del 28.76% en comparación al año 2004. En México la producción máxima en el periodo antes mencionado fue de 637 toneladas en el año 2004 y a lo largo de tres años ha disminuido en un 60.5%, esto ocasionado por el colapso del precio que cierra para el año 2007 en 2,192.86 US\$t<sup>-1</sup>, es decir 7.3 veces abajo del precio marcado en el 2004 (FAOSTAT, 2009).

Tabla 2. Producción mundial en toneladas de vainilla beneficiada.

País	2004	2005	2006	2007
Indonesia	3700	3700	3600	3700
China	2600	2534	2613	900
Madagascar	1350	1200	1000	839
México	637	291	280	252
Tonga	150	170	130	130
Turquía	70	140	100	100
Uganda	50	75	70	70
Comoras	42	70	65	60
Polinesia	20	50	45	43
Reunión	15	22	21	25
Malawi	10	20	20	20
Portugal	8	12	10	10
Zimbabwe	8	10	10	10
Guadalupe	7	8	8	8
Kenya	0	8	8	8

Fuente: FAOSTAT 2007

El área que se encuentra en producción a nivel mundial es de 75,603ha, donde destaca Madagascar con el primer lugar en cuanto a superficie y líder del mejor precio, como se muestra en la Figura 2. Sin embargo, su producción aun está por debajo de la de Indonesia, esto se debe a que las plantaciones aún son inmaduras, se estima que para el 2012 Madagascar supere en producción a Indonesia (Kahane *et al.*, 2008).

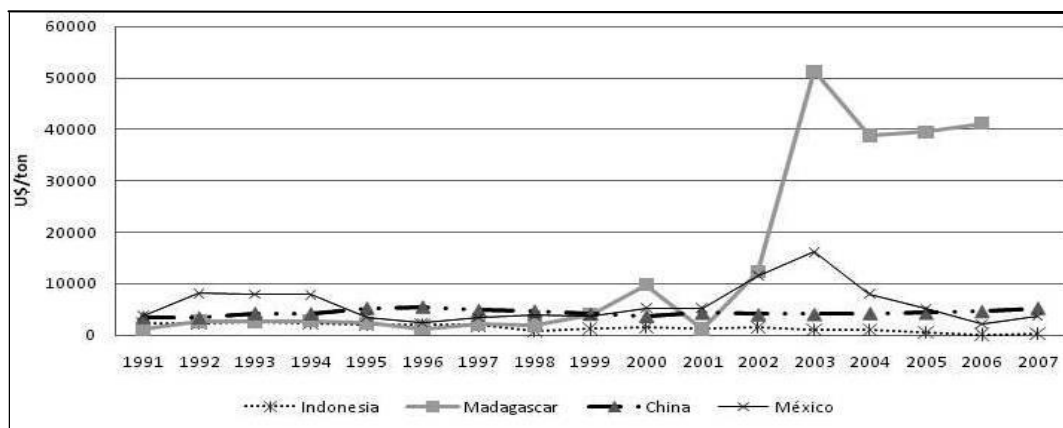


Figura 2. Fluctuaciones en el precio de la vainilla (valor estimado del dólar, agosto del 2009)

En México se trabaja la vainilla en 1,738.25 ha del país, entre los estados con mayor área cultivada encontramos a Veracruz, quien produce el 79.2% de la producción nacional, eso lo ubica como el productor número uno, el segundo lugar lo ocupa Oaxaca con el 8.16%, Chiapas y Puebla producen el 2.9 y 2.3% respectivamente (SAGARPA, 2007). La superficie cultivada en relación a la superficie cosechada dista de ser igual o equivalente en algunos estados como se muestra en la Figura 3, en el estado de Oaxaca se cosecha el 85.95% de la superficie cultivada, Veracruz aprovecha 69.1%, estados como San Luis Potosí y Quintana Roo no reportan superficie cosechada para el 2007. El destino de la vainilla es principalmente USA (85.92%), Cuba (3.7%) y España (1%). (COVERVAINILLA, 2007).

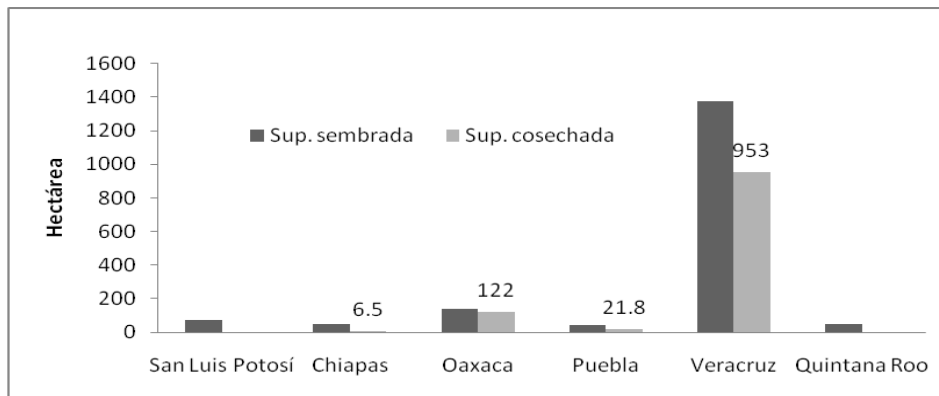


Figura 3. Superficie cultivada y cosechada de vainilla en México 2007

Si bien la vainilla es una especie altamente demandada, los costos de producción y costos de oportunidad pueden variar según la forma de producirla, como lo muestran los resultados del trabajo de Barrera-Rodríguez *et al.* (2009) en la región del Totonacapal, ubicado entre la sierra norte del estado de Puebla y noroeste de Veracruz, donde se realizó un análisis de rentabilidad y competitividad de los sistemas de producción bajo naranjo y bajo malla sombra; los resultados muestran un costo de producción de US\$24 y US\$45 kg<sup>-1</sup> respectivamente. Por otro lado, estudios en Emera y Manufahi, realizados al este de Timor, Indonesia, arrojan un costo de producción de US\$22.50 kg<sup>-1</sup> bajo cacaotales diversificados. Es importante mencionar que hasta el momento la mayor parte de la mano de obra para el cultivo de vainilla se va en tutorio y polinización por lo que tener sistemas intensivos o tecnificados no abarata los costos de producción para este cultivo.

## 2.4 Química de la vainilla

La vainilla es ampliamente apreciada por su aroma, el cual es altamente valorado en la industria agroalimentaria, licorería y perfumería. Los compuestos volátiles más importantes son: La vainillina, ácido vainillínico, alcohol vainillina, *p*-hidroxibenzaldehído, *p*-ácido hidroxibenzoico y *p*-alcohol hidroxibenzaldehído (Figura 4); siendo el vanillin el compuesto principal responsable del aroma de la vainilla. El olor característico de la vainilla se desarrolla en las cápsulas que son cortadas a tres cuartos de su maduración, la cual está reconocida por los productores por la presencia de coloración amarilla o rayas rojas y el nulo crecimiento que tiene ésta. Es necesario hacer la colecta a esta etapa de maduración ya que si se dejan madurar las cápsulas se abren por su naturaleza dehiscente, perdiendo así la mayor parte de su valor comercial.

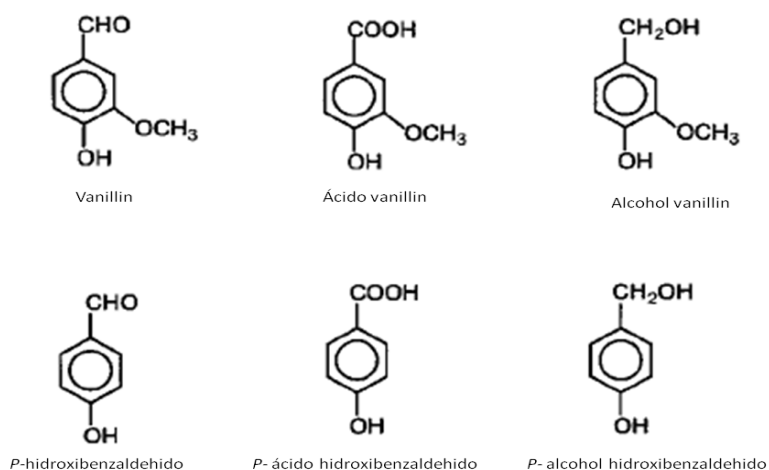


Figura 4. Principales componentes de la vainilla.

Fuente: Ramachandra y Ravishankar, 2000.

El aroma de la vainilla se debe a una gran mezcla de compuestos volátiles, el trabajo de Pérez-Silva *et al.* (2007) muestra 65 compuestos volátiles (Tabla 3) a partir de un extracto orgánico de vainilla producida y beneficiada en la región del Papaloapan. Esto muestra la gran complejidad del extracto de la vainilla.



Tabla 3. Principales componentes en vainas curadas

<b>Compuesto</b>	<b>Promedio(µg/g)</b>	<b>Compuesto</b>	<b>Promedio (µg/g)</b>
<b>Fenoles</b>		<b>Ácidos</b>	
guayacol	9.3	ácido benceno propanoico	3.9
p-cresol	3.8	ácido cinámico(isómero 1)	3.4
fenol	1.8	ácido cinámico(isómero 2)	9.5
p-cresol	2.6	ácido anisílico	7.7
p-vinil guayacol	1.2	<b>Alcoholes</b>	
p-vinilfenol	1.8	oct-1-en-3ol	0.5
vainillin	19118	butan-2,3-diol (isómero 1)	16.5
acetovainillin	13.7	octanol	1.1
alcohol vainílico	83.8	butan-2,3-diol (isómero 2)	8
p-hidroxibenzaldehido	873.3	propan-1,2-diol	0.5
alcohol p-hidroxibencílico	65.1	alcohol bencílico	2.7
ácido vainílico	1315	2-fenil etanol	1
ácido p-hidroxibenzoico	255	3-fenil propanol	0.5
vainilil metil éter	0.5	alcohol anisílico	2.4
vainillol metil cetona	2.2	alcohol cinámico	1
<b>Ácidos</b>		<b>Aldehidos</b>	
ácido acético	24.3	hept-2-enal	2.1
ácido propanoico	1.71	dec-2-enal	1.8
ácido isobutírico	1.7	deca-2,4 (E)-dienal	1.4
ácido butírico	0.5	deca-2,4 (E-Z)-dienal	1.2
ácido isopentanoico	3.8	<b>Esteres</b>	
ácido pentanoico	1.5	Salicilato de metilo	2.1
ácido hexanoico	0.5	cinamato de metilo	1.8
ácido heptanoico	1.9	formato de anisilo	1.4
ácido octanoico	5.5	Linolenato de etilo	1.2
ácido 2-heptanoico	1.7	<b>Hidrocarburos</b>	
ácido nonanoico	15.7	tricosano	15.9
ácido dodecanoico	2.2	pentacosano	19.9
ácido tetradecanoico	12.4	<b>Heterocíclicos</b>	
ácido pentanoico	13.4	furfural	0.5
ácido hexadecanoico	126.6	?-butirolactona	0.5
ácido 9-hexadecanoico	5.7	pantolactona	1.4
ácido esteárico	13.9	3-etil-4-metil-1H-pirrol-2,5-diona	1.8
ácido oleico	16.3	<b>Cetona</b>	
ácido linoleico	225.6	3-hidroxibutan-ona.	14.6
ácido benzoico	2.6		

Fuente: Pérez-Silva *et al.*, 2007.

Actualmente la vainillina puede sintetizarse de diferentes fuentes biológicas como se muestra en la Tabla 4. La generación de vainillin más exitosa y también la más usada es a

partir de ácido ferúlico, resultado de la unión de polisacárido-polisacárido y polisacárido-lignina, éste es un compuesto abundante de la pared celular vegetal (da rigidez a la planta y actúa como defensa contra microorganismos) y es parte del grupo de los ácidos hidroxicinámicos. Sin embargo, el resultado de la síntesis del saborizante está por debajo de la calidad y complejidad de la vainilla natural.

Tabla 4. Biotransformación para la obtención de vanillin a partir de microorganismos

Microorganismo	Substrato	Producto
<i>Pycnoporus cinnabarinus</i>	ácido ferúlico	vanillin
<i>Aspergillus niger</i>	ácido ferúlico	vanillin
<i>Pseudomonas acidovorans</i>	ácido ferúlico	vanillin
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	ácido ferúlico	vanillin
<i>Paecilomyces variotii</i>	ácido ferúlico	vanillin
<i>Spirulina platenses</i>	ácido ferúlico	vanillin
<i>Haematococcus pluviales</i>	ácido ferúlico	vanillin
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ácido ferúlico	ácido vanillin
<i>Escherichia coli</i>	ácido ferúlico	vanillin
<i>Alcaligenes paradoxus</i>	ácido ferúlico	vanillin
<i>Streptomyces setonii</i>	ácido ferúlico	vanillin
<i>Fomes fomentarius</i>	ácido ferúlico	vanillin
<i>Polyporus versicolor</i>	ácido ferúlico	vanillin
<i>Rhodotorula rubra</i>	ácido ferúlico	ácido vanillin
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	eugenol	vanillin
<i>Pseudomonas spp.</i>	eugenol	vanillin
<i>Serratia spp.</i>	eugenol	vanillin
<i>Enterobacter spp.</i>	isoeugenol	vanillin
<i>Art haobacter globiformis</i>	eugenol	vanillin
<i>Serratia marcescens</i>	vanillin	ácido vanillin
<i>Streptomyces viridosporus</i>	vanillin	ácido vanillin
<i>Aspergillus niger</i>	vanillylamine	vanillin
<i>Escherichia coli</i>	vanillylamine	vanillin
<i>Pycnoporus cinnabarinus</i>	ácido vanillin	vanillin
<i>Proteus vulgaris m-met haoxytyrosine</i>	m-met haoxytyrosine	vanillin
<i>Stilbene dioxygenase Isorhaponin</i>	isorhaponin	vanillin
<i>Lipoxygenase</i>	coniferyl aldehyde	vanillin
"	ácido ferulico	vanillin
<i>Brettanomyces anomalus</i>	ácido ferulico	vanillin
"	caffeic acid	vanillin
"	ácido cumarinico	vanillin
<i>Penicillium simplicissimum</i>	alcohol vanillil	vanillin

Fuente: Ramachandra-Rao y Ravishankar 2000

El buen desarrollo de la cápsula es sumamente importante para la concentración de compuestos químicos, ésta deja de ampliar su longitud a partir del quinto ó sexto mes y da paso al desarrollo de compuestos químicos como la glucovainillina, que alcanza su máximo grado de concentración al octavo mes y la vainillina al noveno mes (Zenk, 1965 y Kanisawa, 1993, citados por Dignum *et al.*, 2007). Una vez que las cápsulas son cortadas y transportadas al centro de acopio o tratado de las mismas, éstas son sometidas a un tratamiento que recibe el nombre de “curado”. El objetivo del proceso es marcar un alto al desarrollo vegetativo natural e inducir la formación de los constituyentes organolépticos mediante la deshidratación de la cápsula y la acción enzimática que sufren los azúcares (Toussaint-Samat, 2002).

El método de curado es practicado de diferentes formas pero todas coinciden en cuatro etapas: Marchitez, Sudado, Secado y Acondicionamiento (Ranadive 1994; Ramachandra-Rao y Ravishankar, 2000; Naturland, 2000; Havkin-Frenkel *et al.*, 2004; Dignum *et al.*, 2007) las cuales consisten en:

- a) Marchitez: Calentamiento de las cápsulas en un horno o utilizando la energía solar, otras opciones son: la congelación rápida, la aplicación de etileno, o el escaldado que consiste en sumergir las cápsulas en agua a 80°C durante 7 a 15 minutos. El escaldado es la práctica más empleada por ser económica y fácil de hacer. Estas actividades detienen la maduración, provocando la muerte fisiológica de la cápsula para dar inicio a las reacciones enzimáticas responsables de la producción de los compuestos del saborizante. En esta etapa se da la aparición de manchas color café en las vainas.
- b) Sudado: Elevación de la temperatura para promover las reacciones enzimáticas y provocar un secado inicial rápido. Las cápsulas son envueltas en toallas en el día y puestas sobre mesas en un área ventilada y sin incidencia directa de la luz, mientras que durante la noche son depositadas en cajas herméticamente cerradas. Este proceso se repite de 8 a 30 veces según las condiciones climáticas del lugar donde se desarrolle la práctica y el estado en el que se encuentren las cápsulas. Durante esta etapa se intensifica la generación del aroma y se distribuye en toda la cápsula.

- c) Secado: Este proceso se da al aire libre, a temperatura ambiental, hasta que las vainas alcanzan una tercera parte de su peso inicial.
- d) Acondicionamiento: Las vainas son almacenadas en cajas cerradas por un período de hasta tres meses, aquí es donde las cápsulas adquieren su típico color negro parduzco, con una textura suave y flexible.

## **2.5 Nutrición en epifitas y hemiepifitas**

El epifitismo es una interacción comensalística en la cual una especie es el forófito u hospedero y la otra una planta epífita (Smith y Smith 2001). Las epifitas al adherirse a la copa de un árbol obtienen una posición más elevada en el estrato selvático o boscoso obteniendo mejor alcance a los rayos solares y agua que cae del cielo o la que corre por el fuste de los árboles. Los forófitos de corteza gruesa y rugosa son los que más promueven el desarrollo de epifitas y hemiepifitas, ya que permiten la acumulación de varias formas de vida (microorganismos, musgos, líquenes, briofitos, insectos etc.) que genera y atrapa materia orgánica y el agua, al escurrir por la corteza, atrapa iones provenientes de esta materia orgánica que pueden ser asimilados por las raíces (Nadkarni *et al.*, 2001). Las raíces de las epifitas y hemiepifitas cumplen con funciones como fijación al forófito y absorción de elementos esenciales para las funciones metabólicas (Nadkarnin, 1984). La raíz de la *V. planifolia* en cultivares por lo general es de origen adventicio debido a la forma de propagación de la planta (por esquejes). La raíz está constituida por un tejido esponjoso llamado velamen que absorbe el agua que escurre por la corteza de los árboles, tejido parenquimático y un tejido fibroso el cual es un cilindro vascular que conduce los nutrimentos hacia los pseudobulbos, tallos, flores y hojas; también se encuentran micorrizas que proporcionan fósforo (P) al interior de la raíz de las orquídeas. La colonización del forofito por epifitas no es inmediata, por lo general crecen primero sobre la corteza de los árboles cianobacterias y algas que son las primeras en retener materia orgánica y algunos minerales como nitrógeno, fósforo y sodio. Después, siguen los líquenes que también crecen en la corteza de los árboles y al morir pasan a ser parte de la materia orgánica; la acumulación de materia orgánica es muy importante para la retención de humedad (Nadkarni 1984; Nadkarni, 2000).

Las epífitas como orquídeas, aráceas, bromeliáceas y helechos son plantas vasculares de suma importancia, tanto en la riqueza de especies de bosques y selvas como en su rol en los ciclos de agua y nutrientes (Krömer *et al.*, 2007). El trabajo de Woda (2004) desarrollado en un bosque de la cordillera de Chile demuestra que un bosque con epífitas puede atrapar hasta 62% más agua que a campo abierto y que la biomasa foliar de epífitas y trepadoras puede ser hasta de 2.2 t ha<sup>-1</sup>.

Las plantas obtienen de su entorno los nutrimentos esenciales para su vida, en el caso de las epífitas y hemiepífitas estas pueden absorber el agua a través de la epidermis de la raíz y junto con el agua se encuentran los nutrimentos en forma de iones que han sido arrastrados por la corteza de los árboles provenientes de las excretas de varios organismos (aves, insectos, reptiles etc.), polvo, hojarasca etc., acumulados en la corteza de los árboles (Vareschi, 1953). La absorción de iones por la ruta simplástica comienza en la membrana citoplasmática de las células epidérmicas, los iones se mueven entonces de los protoplastos de las células epidérmicas a la primera capa de las células parenquimatosas a través de los plasmodesmos de las paredes de las células epidérmicas-corticales, entrando así a la célula para desarrollar diferentes funciones fisiológicas.

El flujo de fotones para fotosíntesis es la fuente de energía más importante en el planeta, las plantas se han modificado y especializado en el aprovechamiento de esta fuente, ya que pueden detectar variaciones cualitativas, de intensidad, dirección y periodos de luz, produciendo respuestas adaptativas y fisiológicas (Baldini, 1992), es por eso que el funcionamiento de la vida se debe en gran parte al proceso de fotosíntesis, que consiste de la unión entre el dióxido de carbono, agua y asimilación de energía solar en fotones, que dan como resultado azúcar y oxígeno. Por medio de este proceso, la energía luminosa se transforma en energía química, pero el proceso de captura y transformación no es siempre el mismo, varía según el caso o tipo de planta.

Las plantas pueden clasificarse en C3, C4 y CAM (Metabolismo Ácido de las Crasuláceas), según la forma de fijación del dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (Lüttge, 2007). El proceso de adaptación evolutiva y selección natural en las plantas CAM ha dado como resultado la fijación del CO<sub>2</sub> durante la noche, lo que implica no tener los estomas abiertos durante el calor del día y así evitar una tasa alta de evapotranspiración, (Giordano *et al.*,

2005). Es posible que cerca de 15,000 a 20,000 especies vegetales sean CAM (Salisbury y Ross, 1991). El proceso fotosintético CAM permite la vida de las plantas bajo condiciones extremadamente secas, exceptuando algunas cactáceas y orquídeas que viven en climas húmedos, sin embargo, estas últimas no disponen del agua que se encuentra en el suelo, como otras especies vegetales. Las epífitas habitan en condiciones muy inestables en cuanto al suministro de agua y disponibilidad de nutrimentos, por ello han desarrollado mecanismos de almacenamiento de agua como son: succulencia, cutículas impermeables, tricomas foliares, hojas en forma de roseta para retener agua y fotosíntesis CAM (Andrade, 2003). Las plantas tropicales con fotosíntesis CAM han desarrollado estos mecanismos principalmente porque la competencia por luz es fundamental en los ambientes selváticos, pero al estar situadas en las copas de los árboles tienen una oportunidad de sobrevivir ya que las C3 por lo general no colonizan estos ambientes. El mecanismo de fijación de CO<sub>2</sub> vía CAM les permite a las plantas mantener por más tiempo la tasa máxima de asimilación de CO<sub>2</sub> y un balance positivo de carbono y así, disminuir la pérdida de energía asociada a la fotosíntesis, no obstante, la fijación de CO<sub>2</sub> depende de la cantidad de radiación disponible. Para algunas cactáceas la asimilación de CO<sub>2</sub> tiende a elevarse de manera lineal con el flujo de fotones (Nobel, 1991). El precio en términos de adenosin trifosfato (ATP) por unidad de CO<sub>2</sub> fijado se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 5. Resumen de requerimientos energéticos de fijación de tres moléculas de CO<sub>2</sub> por diferentes vías.

Requerimientos en unidades	<b>C3</b>	<b>C4</b>	<b>CAM</b>
ATP	3	4-5	5.5-6.5
NADPH	2	2	2
Costo de energía (Kj mol <sup>-1</sup> )			
Procesos básicos	590	640-690	715-765
Tasa neta en el proceso (incluyendo respiración)	867	665	740

Fuente: Nobel, 1991

Según diversos autores (Nobel, 1991; Salisbury y Ross, 1991; Winter y Smith, 1996; Lambers *et al.*, 1998; Nimmo, 2003; Lüttge, 2002; Andrade *et al.*, 2007) la fotosíntesis CAM se basa en las siguientes fases:

Fase I; en la noche los estomas están abiertos y se da la formación del aceptor primario del CO<sub>2</sub> que es el fosfoenol-piruvato (PEP siglas en inglés) a partir de carbohidratos no

estructurales en las células fotosintéticas. La fijación del CO<sub>2</sub> ocurre en el citosol de las células del mesófilo, el CO<sub>2</sub> es fijado como una molécula de HCO<sub>3</sub> por la fosfoenolpiruvato-carboxilasa (PEPc siglas en inglés) y ocurre la síntesis del malato en la vacuola central de las células fotosintéticas.

Fase II; ya durante el día el malato es trasladado por acarreadores específicos de ATP de la vacuola al citosol.

Fase III; El malato es descarboxilado por vía C<sub>3</sub> y se da la liberación del CO<sub>2</sub>, posteriormente se forma un compuesto de tres carbonos PEP. Con ayuda de la enzima RuBISCO el CO<sub>2</sub> es liberado en los cloroplastos y se da comienzo al ciclo de Calvin-Benson y la regeneración de carbohidratos de almacén o glucogénesis. Cuando las reservas de ácidos orgánicos se han terminado los estomas abren nuevamente.

Fase IV; el CO<sub>2</sub> endógeno y exógeno es fijado por la RuBISCO y por la PEPc comenzando nuevamente la asimilación de los ácidos orgánicos.

Las plantas CAM pueden ser clasificadas como facultativas o intermedias C<sub>3</sub>-CAM pues presentan intervalos fotosintéticos en C<sub>3</sub> en respuesta de agua, la humedad relativa, la temperatura del aire, la cantidad de luz y fotoperiodo (Borland y Griffiths, 1996). Nelson y Sage (2008), concluyen cómo resultado de sus investigaciones que *Vanilla fragrans* es una CAM obligada al ser totalmente dependiente de la fase I y II para la asimilación de CO<sub>2</sub>.

### III. OBJETIVO

Describir las respuestas fisiológicas y condición edáfica del cultivo de *Vanilla planifolia* en un sistema agroforestal en el municipio de Ixtacomitán, Chiapas desde post floración a floración.

#### 3. 1. Objetivos específicos

- 1) Describir los intervalos fotosintéticos que presenta *V. planifolia* en un sistema agroforestal.
- 2) Especificar los periodos de asimilación de CO<sub>2</sub> en *V. planifolia*, en un sistema agroforestal, bajo dos intensidades de luz.
- 3) Evaluar las diferencias en el contenido nutrimental de las raíces que tienen contacto con el suelo y las que están sobre la corteza.
- 4) Caracterizar el estado nutrimental de las plantas de vainilla en diferentes condiciones de manejo de luz.



## IV. METODOLOGÍA

### 4.1 Área de estudio

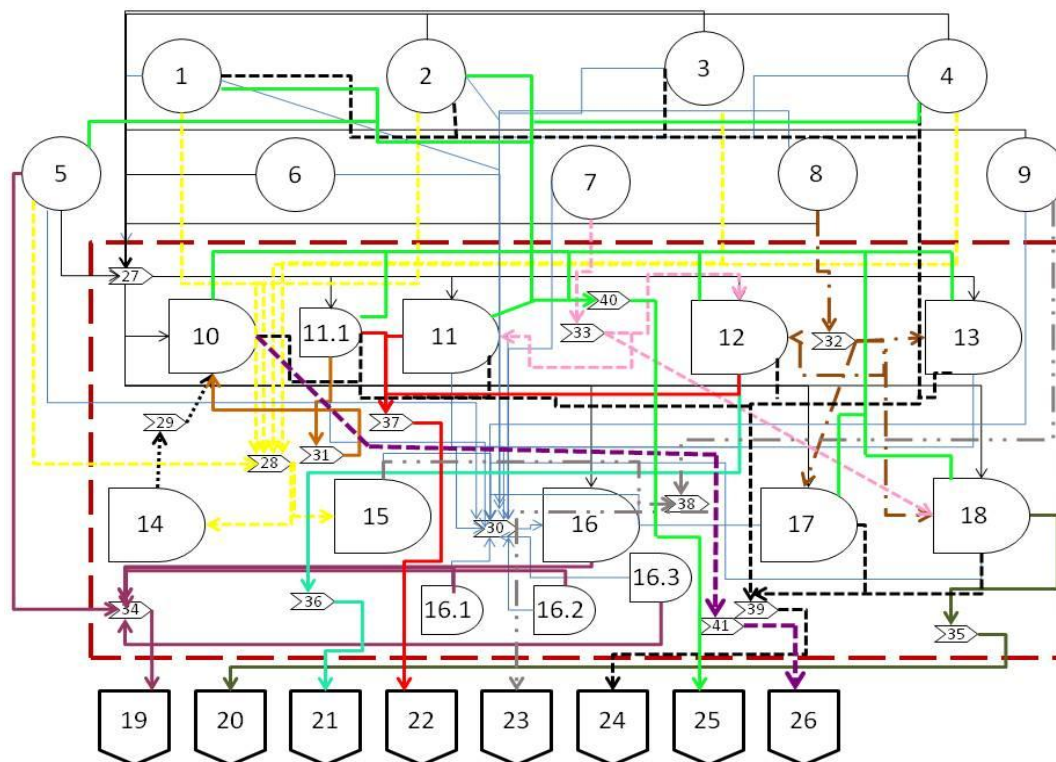
Los muestreos se efectuaron en una parcela agroforestal de cacao ubicada en el municipio de Ixtacomitán, Chiapas que se localiza a 17°27'18.45" de latitud N y 93°05'41.84" de longitud O, a 597 m.s.n.m. Según la clasificación de Köppen, modificada por García (1988), el clima es Am con lluvias todo el año, la precipitación pluvial es de 3,500 milímetros anuales. El uso del suelo en la zona es principalmente agropecuario y de selva media perennifolia. En la repartición de tierras agrícolas del municipio el 32% corresponde a terrenos ejidales y el 68% a propiedad privada (INEGI, 2007).

Los suelos predominantes son: Acrisoles, Leptosoles y Luvisoles el primero tiene un horizonte B árgico con una capacidad de intercambio catiónico menor a  $24 \text{ cmol}_{(+)}\text{Kg}^{-1}$  de arcilla y una saturación de bases menor al 50%, se identifica por presentar colores oscuros sobre horizontes amarillentos a rojizos. Los Leptosoles son suelos poco profundos, de 15 cm o menos de espesor, se encuentran en zonas montañosas con topografía escarpada y con alta pendiente, es decir, sitios propensos a efectos erosivos. El perfil de estos suelos incluye básicamente un horizonte AR ó AC, rara vez se puede encontrar un horizonte B. Generalmente estos suelos están sobre materiales calcáreos, tienen baja potencialidad agrícola y su mejor uso está relacionado con la conservación de la diversidad de flora y fauna. Los suelos del tipo Luvisol tienen un horizonte B árgico, con una capacidad de intercambio catiónico mayor o igual a  $24 \text{ cmol}_{(+)}\text{kg}^{-1}$  de arcilla y una saturación de base del 50% o más a través del horizonte B, son suelos de color rojizo (Palma *et al.*, 2007).

Para este trabajo se contó con una parcela de cacao orgánico que cumple con todos los requisitos de un sistema agroforestal, en donde las principales especies forestales son: *Gliricidia sepium* (Jacq) Steud., *Erythrina folkersii* Krukoff y Moldenke pertenecientes a la familia Leguminosae, *Brosimum alicastrum* Sw. y *Ficus cotinifolia* Kunth, familia Moraceae, *Cecropia obtusifolia* Bertol, una Cecropiaceae, *Cordia alliodora* (Ruiz y Pav.) Oken, Boraginaceae, *Theobroma cacao* L., Sterculiaceae, *Cedrela odorata* L., Meliaceae, las cuales fueron identificadas con ayuda del manual para la clasificación de Pennington y Sarukan (2005). Dentro del sistema de producción también se encuentran algunas plantas

utilizadas como flor de corte como son: *Heliconia psittacorum* y *Heliconia latispatha* Benth, pertenecientes a la familia Heliconiaceae, la densidad de plantas de *V. planifolia* por hectárea para este sitio es de 800 plantas ha<sup>-1</sup> con diferentes estados fenológico que van desde resiembras de 30 días hasta los 5 años. En la Figura 5 se muestra un esquema de las principales interacciones del sistema de producción.

Figura 5. Diagrama de flujo de las principales interacciones del sistema agroforestal de Ixtacomitán, Chiapas.



**Simbología**



**Interpretación**

Elementos externos o eventuales	Componentes	Elementos que salen del sistema	Interacciones
1. Luz	10. Vainilla	19. Nutrientos	27. 1,2,3,4,5,6,8,9 interacción con 10, 11,11.1, 12, 13,16,17,18
2. Agua	11. Maderables	20. Verduras	28. 1,2,3,4, interacción con 14, 15
3. Aire	11.1 Tutor de la vainilla	21. Fruta	29. 14 interacción con 10
4. Temperatura	12. Frutales	22. Leña	30. 1,2,3,4,5,6,7,9, 11,15,16.1,16.2, 16.3,17,18 interacción con 16
5. Gases	13. Hierbas (arvenses)	23. Animales	28. 11.1 interacción con 10
6. Fuerza de trabajo	14. Microorganismos	24. Calor	29. 8 interacción con 12,13,17,18
7. Semillas	15. Mezofauna	25. Agua	30. 7 interacción con 11, 12,17,18
8. Fertilizantes (compostas)	16. Suelo	26. Capsulas de vainilla	31. 5,8,16,16.1,16.2,16.3 interacción con 19
9. Fauna	16.1 Materia orgánica		32. 18 interacción con 20
	16.2 Macroelementos		33. 12 interacción con 21
	16.3 Microelementos		34. 11,11.1, 12 interacción con 22
	17. Flores (heliconias)		35. 9, 15 interacción con 23
	18. Cultivos anuales (yuca, chile y palmas)		36. 1,2,3,4,10,11,11.1,12,12,17,18 interacción con 24
			37. 1,2,3,4,5,10,11,11.1,13,17,18 interacción con 25
			38. 10 interacción con 26

#### **4.2 Manejo de las plantas de vainilla**

Básicamente se realizaron prácticas tradicionales, consistentes en el encauzamiento del bejuco sobre el tutor; esta actividad se realiza para no dejar que la planta tome alturas mayores a los dos metros, ya que posteriormente la polinización y manejo de las cápsulas es difícil. La práctica consiste en encausar el ápice hacia el suelo, dejando que haga contacto con el mismo para que se formen raíces adventicias. Al pasar el tiempo el ápice es nuevamente encausado hacia arriba sobre un nuevo tutor que ha sido plantado previamente a un costado del viejo. El tutoreo se practica en promedio cuatro veces al año por planta, la época varía ya que *V. planifolia* es de crecimiento indeterminado y no todas las plantas se desarrollan con la misma velocidad. Para evitar competencia por nutrientes y/o brotes de vectores o enfermedades que puedan hospedarse en las malezas aledañas a las plantas de vainilla, se realizaron deshierbes manuales. Como la plantación agroforestal está compuesta principalmente por árboles de cacao bajo certificación orgánica, no se aplicó ningún producto químico o sintético para el control de enfermedades o plagas. A los tutores de la vainilla se les practicó poda a sus ramas una vez que estos tenían más de cinco ó seis ramificaciones, con la finalidad de conservar un tamaño de cuatro metros y una sombra de igual intensidad durante todo el tiempo que duró el experimento.

#### **4.3 Mediciones del rango fotosintético ( $A$ ) y transpiración ( $g_s$ )**

Para la obtención del rango fotosintético ( $A \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) y transpiración ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) bajo el sistema agroforestal, se realizaron siete muestreos mensuales, de julio a enero. Es importante mencionar que para el mes de enero no se obtuvieron lecturas diurnas por la continua lluvia que se presentó en el área de muestreo. Sin embargo, la distribución de los muestreos fue suficiente para cubrir el intervalo de tiempo post floración y floración de la *V. planifolia*. Para medir  $A$  y  $g_s$  bajo condiciones ambientales se utilizó el LCi Ultra Compact Photosynthesis System (ADC Bioscientific Herts, UK), empleando una célula estándar para hojas anchas ( $6.25 \text{ cm}^2$ ). Se tomó la parte media de las hojas 5 y 18 (contando desde el ápice de la planta), ya que se quiso contrastar  $A$  y  $g_s$  entre las hojas jóvenes (5) y las maduras (18). Para las mediciones de  $A$  y  $g_s$  se efectuaron tres repeticiones de dos minutos cada una sin alterar el ángulo de la hoja, en tres plantas de vainilla bajo dos condiciones de incidencia solar: intensa y bajo sombra. Las lecturas se realizaron cada tres

horas en cada planta durante 24 h, comenzando a las 04:00 h y terminando a las 01:00 h del siguiente día.

#### 4.4 Flujo de fotones para fotosíntesis (FFF) en el agroecosistema.

En la plantación había un área que se encontraba en proceso de descope o poda severa de los árboles de cacao, ya que la edad de los mismos era de 45 años, considerados como árboles viejos y poco productivos por el productor, en esta área se encontraban intercaladas plantas de *V. planifolia*, en árboles que son utilizados para proporcionar sombra al cacao. Las actividades de descope o poda severa aplicadas a los árboles de cacao cambiaron el FFF que recibían las plantas de *V. planifolia*, mientras que a no más de 200 m de distancia las condiciones de sombreado eran mayores ya que el resto de la plantación de cacao tiene 15 años y no le fue practicada ninguna poda. En cada área se marcaron siete puntos, considerando una distancia de 20 m entre puntos, cubriendo así el área donde se encontraban las plantas de *V. planifolia*. En cada punto marcado y utilizando el Basic Quantum Meter Photosynthetic Photon Flux se midió el FFF una vez al mes durante siete meses, a una altura de 130 cm del piso y orientado a los cuatro puntos cardinales, las mediciones fueron tomadas en el momento en que el sol se encontró en el cenit (12:00 a 14:00 h), también se tomó la lectura de la radiación fotosintéticamente activa fuera de la parcela donde no había sombra alguna, las lecturas se realizaron al inicio y final de las mediciones, ya que era importante registrar los cambios de flujo de fotones para fotosíntesis sin sombra.

Para calcular el valor del flujo de FFF incidente en las plantas de *V. planifolia* se utilizó la fórmula propuesta por Bellow y Nair, (2003):

$$\text{Estimación del flujo de fotones para fotosíntesis} = \left( I_{cb}/I_{ca} - 1 \right) \times 100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$$

Donde:

$I_{cb}$ : FFF arriba del dosel arbóreo o a cielo abierto

$I_{ca}$ : FFF bajo el dosel arbóreo

La estimación de la  $I_{cb}$  y  $I_{ca}$  se obtuvieron mediante las siguientes operaciones

$$I_{cb} = r_1 + r_2 / 2$$

Donde:

$r_1$  = FFF inicial (antes de las lecturas tomadas dentro de las dos áreas)

$r_2$  = FFF (después de las lecturas tomadas dentro de las dos áreas)

$$I_{ca} = \text{FFF dentro de la parcela} = r_n + r_s + r_e + r_o / 4$$

Donde:

$r_n$  = El valor del FFF tomada con orientación al norte

$r_s$  = " " " sur

$r_e$  = " " " este

$r_o$  = " " " oeste

El rango fotosintético (actividad fotosintética) "A" fue obtenido mediante la ecuación de eficiencia fotosintética activa que se describe a continuación:

$$A = u_s \Delta c$$

Donde:

$u_s$  = masa de flujo de aire corriente por  $m^2$  del área de la hoja ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).

$\Delta c$  = diferencia en la concentración de  $\text{CO}_2$  a través del cambio de dilución correcta ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ).

El rango de asimilación de  $\text{CO}_2$  ( $g_s$ ) fue analizado mediante la ecuación:

$$g_s = 1/r_s$$

Donde:

$r_s$  = resistencia estomática al vapor de agua,  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{mol}^{-1}$

#### 4. 5 Análisis de tejido vegetal

Las hojas de las plantas a las que se les tomaron las lecturas de  $A$  y  $g_s$  fueron colectadas al terminar las lecturas de cada mes. Cada hoja fue etiquetada con el mes y número, formando así cuatro muestras compuestas, de tres hojas cada una, de modo que las muestras quedaron conformadas de la siguiente manera: dos muestras por cada condición de flujo de fotones para fotosíntesis (la primera contenía las hojas 5 ó 6 y la otra las hojas 18 ó 19), las muestras

correspondientes a los meses de julio, agosto, septiembre y octubre fueron enviadas al Laboratorio de Suelos, Plantas y Agua (LASPA) del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, las de los meses de noviembre, diciembre y enero fueron enviadas al Laboratorio de Alta Tecnología de Orizaba, ya que el LASPA se encontraba cerrado. En ambos laboratorios se utilizaron las mismas técnicas para determinar las concentraciones de N, P, K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn, B, Cu y Na a las muestras (Tabla 6). También se colectaron raíces aéreas y terrestres una vez terminada la serie de mediciones de  $A$  y  $g_s$ , éstas fueron enviadas al Laboratorio de Alta Tecnología de Orizaba para practicarles análisis de N, P, K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn, B, Cu y Na, como sugiere la Norma Oficial Mexicana (NOM-021-RECNAT-2000).

Tabla 6: Análisis y técnica correspondientes al material vegetal

Análisis	Método
N	Semí-micro Kjeldahl
P	Vanadomolibdico
K, Ca, Mg, Na, Mn, Fe, Zn, B y Cu	Extracción de HNO <sub>3</sub> -HClO <sub>4</sub> . Cuantificada por espectrofotometría de absorción atómica.

Fuente: Chapman y Pratt, 2004

#### 4.6 Análisis edafológico

En el sistema agroforestal se tomó una muestra compuesta de suelo (15 submuestras) a una profundidad de 0-20 cm, ya que las raíces de la *V. planifolia* no penetran a mayor profundidad. Las muestras fueron tomadas con una barrena tipo holandesa. Los análisis químicos (Tabla 7) se realizaron en el Laboratorio de Suelos Plantas y Agua del Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco, siguiendo la metodología sugerida en la Norma Oficial Mexicana (NOM-021-RECNAT-2000) que establece las especificaciones de la fertilidad, salinidad y clasificación de suelos.

Tabla 7: Técnicas utilizadas para el análisis del suelo

Análisis	Método
Textura	Bouyoucos
pH	Relación 1:2 suelo y agua respectivamente
Materia orgánica	Walkley y Black
Nitrógeno total	Semí-micro Kjeldahl
Fósforo asimilable	Olsen

Fuente: Chapman y Pratt, 2004

#### **4.7 Análisis estadístico**

A los datos de FFF se les relaciono con los intervalos de  $A$  de las hojas 5 y 18 con la diferente condición de flujo de fotones para fotosíntesis.

A los resultados de las muestras foliares que se mandaron a laboratorio se les aplicó un análisis factorial 2x2 (flujo de fotones para fotosíntesis de luz, menor flujo de fotones para fotosíntesis x hojas jóvenes “5”, hojas viejas “18”) y prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) comparando la condición de luz y edad de las hojas. Los resultados de los suelos fueron interpretados de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Flujo de fotones para fotosíntesis (FFF) sobre las plantas y rango fotosintético ( $A$ ) de *V. planifolia*

El flujo de fotones para fotosíntesis (FFF) es un factor de suma importancia para todas las plantas, incluyendo las CAM, ya que la incidencia de la misma es fundamental para la fijación de  $\text{CO}_2$ . En el muestreo que se desarrolló en el mes de diciembre se registró el menor FFF de las lecturas efectuadas durante el experimento, el valor observado fue de 33.3 micromoles de fotones por metro cuadrado por segundo ( $\mu\text{mol fotones m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) en el sitio de sombra, para el sitio donde la luz fue mayor debido a la poda de los árboles de cacao, el valor FFF fue de 62.2  $\mu\text{mol fotones m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , lo que marca una diferencia del 60% en FFF entre los sitios evaluados. Sin embargo, estas variaciones del FFF sobre la vainilla no afectaron el rango fotosintético ( $A$ ) registrado en las plantas, ya que en el sitio de menor FFF el valor de  $A$  obtenido fue 1.30 y 1.47  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  en hojas jóvenes y maduras respectivamente, en tanto que en el sitio de mayor FFF en las hojas jóvenes se obtuvo un valor de 1.37  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  y en las maduras el resultado fue de 1.28  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . En la Figura 6 se pueden apreciar los rangos de  $A$  dónde el valor más alto (2.33  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) se registró en el mes de septiembre en las hojas 18 de las plantas que fueron expuestas a menor FFF (H18>L).

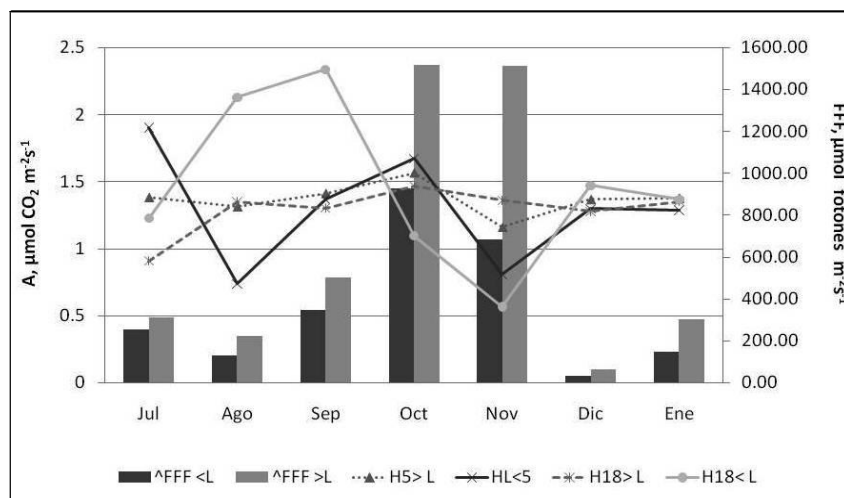


Figura 6. Flujo de fotones para fotosíntesis (FFF) y rango fotosintético ( $A$ ) en hojas 5 y 18 de las plantas de vainilla: hoja joven (H5), hoja madura (H18) expuesta a mayor o menor Flujo de fotones para fotosíntesis.

Datos marcados con ^ corresponden al lado derecho.



En el presente trabajo no se encontraron diferencias en los valores del  $A$  relacionadas con el factor FFF. Este trabajo difiere de los resultados de Puthur (2005) quien identificó en plantas de *V. planifolia* Andrews expuestas a más de 800 micro exa de FFF por metro cuadrado sobre suelo por segundo ( $\mu\text{E FFF m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) las plantas presentan fotoinhibición o destrucción de la planta, ya que en el actual trabajo se presentaron intensidades de radiación de 927 y 1519  $\mu\text{mol FFF m}^{-2}\text{s}^{-1}$  en las plantas expuestas a condiciones menor FFF y mayor FFF, respectivamente. Sin embargo hay que recordar que los valores antes mencionados sólo se presentaron en los meses de octubre y noviembre, el resto de los meses los valores se mantuvieron por debajo de los 600  $\mu\text{mol FFF m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . También se debe de considerar que la sombra orográfica del lugar pudo ayudar a mitigar las horas de exposición a la luz pasadas las 12:00 h.

Durante este experimento no se presentó fotoinhibición ya que se registraron valores de actividad fotosintética por arriba de 0.5  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  tanto en hojas jóvenes como viejas de ambas condiciones de luminosidad. La posible razón por la cual no se haya observado diferencia entre la edad de las hojas y sitios es la alta humedad relativa (HR), ya que sólo en el mes de octubre y noviembre no se presentó lluvia previa o durante el muestreo, la lluvia elevó la HR en ambos sitios, Andrade *et al.* (2006) mencionan que tener una alta presión de vapor favorece el intercambio de gases en *Hylocereus undatus* (Haworth) Britton y Rose (Cactaceae) la cual también es una especie CAM.

Por otro lado, la plasticidad en la respuesta a la incidencia de luz puede representar una estrategia de sobrevivencia en ambientes selváticos, de igual forma, las estructuras como hojas perennes incrementan la eficiencia en la captura de fotones y contribuyen al aumento de la supervivencia en sombra profunda (Valladares *et al.*, 2006). Entre las estrategias de sobrevivencia de la *V. planifolia* se encuentra el crecer en forma de zig zag para no obstruirse el paso de los rayos solares, esto permite a la planta un alto grado de eficiencia fotosintética.

## 5.2 Análisis del rango de asimilación de CO<sub>2</sub> (g<sub>s</sub>) en *V. planifolia*

Los resultados de asimilación de CO<sub>2</sub> y transpiración de las hojas jóvenes expuestas a menor y mayor FFF se muestran en la figura 7 y muestran lo siguiente:

Fase I: Se puede observar que en las plantas expuestas a menor FFF se obtuvieron los valores de  $A$  más altos de  $g_s$  0.37 y 0.94  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$  en los meses de julio (a) y agosto (b) respectivamente y en hojas maduras. En el mes de agosto se observa que en el conjunto de datos tanto en hojas jóvenes y maduras no hay valores de cero para el horario de la fase I. Es importante mencionar que un día antes de muestreo no se registró lluvia en el sitio experimental (CNA, 2008) lo que favoreció el almacenamiento de ácido málico para su posterior asimilación (Zotz y Winter, 1993). Para los meses restantes se observa que la respuesta de apertura estomática generalmente es presentada de las 22:00 a las 07:00 y se observó que dicha apertura se da con mayor frecuencia en las hojas maduras y con mayor periodicidad en las hojas maduras expuestas a mayor FFF a lo largo de este experimento.

Fase II: La respuesta de asimilación de CO<sub>2</sub> en el mes de julio a las 10:00 h se dio en las hojas jóvenes de las plantas que se encontraron expuestas a mayor FFF, el valor registrado fue de 0.01  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Un valor similar fue registrado tanto en las hojas maduras como jóvenes de las plantas expuestas a mayor FFF en el mes de agosto. El mes que para este horario registró el mayor valor fue el de septiembre con valores de 0.30 y 0.29 en hojas maduras y jóvenes, respectivamente, de las plantas expuestas a mayor FFF. El que los valores sean altos para todas las hojas y condición de FFF se debe a que las lluvias previas y durante el muestreo elevaron la humedad relativa favoreciendo así el intercambio de gases. La presencia de valores positivos de asimilación de CO<sub>2</sub> en horarios matutinos para las plantas CAM es común como lo muestra el trabajo de Gehrig *et al.* (1998) al presenta valores positivos de las 07:00 a 12:00 h. Para los meses de octubre y noviembre, los únicos muestreos sin lluvias posteriores o durante los muestreos, se obtuvieron valores de cero en la asimilación de CO<sub>2</sub> para todas las plantas en esta fase, de esta manera se presenta un ciclo CAM típico. En los meses de diciembre y enero en el horario de esta fase las plantas expuestas a mayor FFF presentaron asimilación de CO<sub>2</sub>, entonces parece verse favorecidas las plantas expuestas a mayor FFF.

Fase III: En los meses de julio y agosto en el horario de las 13:00 h no se presentó asimilación de gases en ninguna de las hojas o condición de FFF, mientras que a las 16:00 se presentó asimilación de CO<sub>2</sub> en todas las plantas. En el mes de septiembre a las 13:00 h las plantas expuestas a menor FFF presentaron valores positivos en la asimilación de CO<sub>2</sub> pero dichos valores no fueron más altos de 0.06 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, las demás plantas presentaron valor de cero. Para octubre y noviembre se obtuvieron valores iguales a cero para todas las plantas. En el mes de diciembre se presentaron valores de 0.01 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> este valor también se presentó a las 13:00 en las hojas jóvenes y a las 16:00 h en las hojas maduras que se encontraron expuestas a menor FFF, mientras el resto de las plantas presentaron valores de cero. En el mes de enero (inciso g) solo no se presentó asimilación de CO<sub>2</sub> en las hojas jóvenes que se encontraron expuestas a mayor FFF el resto presentó valores positivos.

Fase IV: En el mes de julio se presentó uno de los valores más altos (0.32 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>) para esta fase en las hojas jóvenes expuestas a mayor FFF, el resto de las plantas también presentó asimilación de CO<sub>2</sub>. El segundo valor más alto de asimilación de CO<sub>2</sub> de, se presentó en el mes de agosto con 0.32 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> en las hojas maduras expuestas a mayor FFF, las otras hojas también presentaron valores positivos pero de menor rango. En el mes de septiembre se presentaron valores de cero en todas las plantas para esta fase ya que en ese momento acababa de pasar la lluvia. En octubre (d) se presentó un valor de 0.02 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> en las hojas maduras expuestas a mayor FFF el resto presentó valores de cero. En Noviembre se obtuvieron valores de 0.01 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> tanto en hojas maduras y jóvenes en ambas condiciones de exposición a FFF. En el mes de diciembre únicamente se presentaron valores de cero en las hojas maduras expuestas a menor FFF. Para el mes de enero no se obtuvieron lecturas por la constante lluvia.

El metabolismo CAM está ligado a las condiciones ambientales (temperatura, intensidad lumínica, humedad ambiental relativa) y nutricionales en las que se desarrolla las plantas, que pueden cambiar o modificar la respuesta fotosintética (Dodd *et al.*, 2002). En este trabajo la curva de asimilación de CO<sub>2</sub> parece coincidir con la presentada por Nelson y Sage (2008) para *V. fragrans*, y con los resultados de Gehrig *et al.* (1998) quien menciona que las hojas y tallos de *V. planifolia* presentan fotosíntesis CAM. Es así que las

funciones metabólicas como asimilación de CO<sub>2</sub> en *Vanilla planifolia* no presentan problema alguno al encontrarse en el sistema agroforestal de cacao, por lo que puede ser una alternativa más para la diversificación de los cacaotales y de esta manera incrementar los ingresos económicos de los productores ya que la vainilla es la segunda especie más cara del mundo.

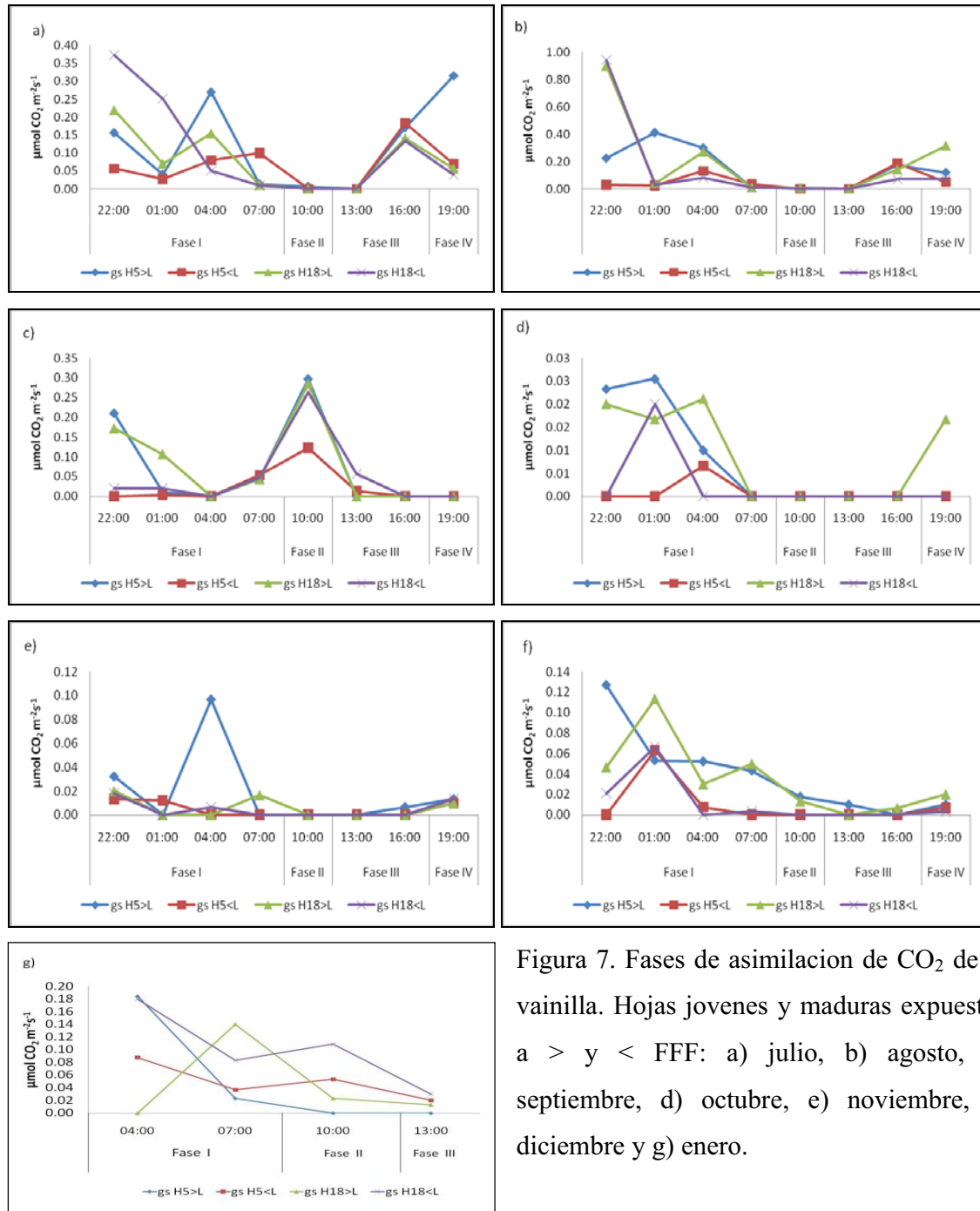


Figura 7. Fases de asimilacion de CO<sub>2</sub> de la vainilla. Hojas jovenes y maduras expuestas a > y < FFF: a) julio, b) agosto, c) septiembre, d) octubre, e) noviembre, f) diciembre y g) enero.

### 5.3 Análisis del material foliar de *V. planifolia*

Los resultados del análisis de las muestras de material foliar (Anexo 2) indican que el contenido de nitrógeno (N) en las hojas jóvenes, para ambas condiciones de luz, presentan valores que van de 0.70 a 2.21%, mientras los valores de las hojas maduras varían de 0.71 a 2.04%, valores que coinciden con los intervalos obtenidos por Domínguez (2005) en *V. planifolia* en respuesta a la fertilización. El análisis factorial 2x2 explica que la exposición de luz no causó ningún efecto en la concentración de nitrógeno ( $Pr > F$  0.1089), pero sí existe un efecto altamente significativo en cuanto a la relación de la concentración de N con la edad de las hojas  $Pr > F < .0001$  (Anexo 5), a menor edad mayor concentración de N. Cibes *et al.* (1946) establecen como rango mínimo de N en *V. planifolia* el valor de 0.58% el cual es superado en todas las hojas de acuerdo a los datos obtenidos en este estudio (Tabla 8).

Tabla 8. Promedio de los análisis foliares por condición de luz

Condición	hoja	N	P %	K	Ca	Mg	Na	Fe	Mg kg <sup>-1</sup>			
									Cu	Zn	Mn	B
Luz	5	1.90	0.21	3.96	3.06	0.53	0.04	256.95	11.03	94.67	61.85	20.79
Sombra	5	1.87	0.22	3.93	2.93	0.60	0.03	145.62	12.26	73.39	60.26	19.91
Luz	18	1.68	0.14	3.11	3.75	0.55	0.03	129.30	10.44	84.31	54.05	17.50
Sombra	18	1.58	0.19	3.37	3.55	0.59	0.03	124.07	11.38	60.45	57.34	17.57
*		1.60-1.74	0.26-0.29	1.87-2.09	3.95-5.05	0.15-0.17	92-97	80-166	6-8	21-27	8-13	18-24

\*Datos de Domínguez 2005

El N en las plantas es un elemento de alta importancia ya que constituye las bases nitrogenadas, interviene en la formación de los aminoácidos útiles, en la síntesis de hormonas, clorofila, enzimas y proteínas del vegetal, aunque el exceso de éste produce deformaciones en el ápice (Bidwell, 1990) y la deficiencia puede producir crecimiento lento (Salisbury y Ross, 1991). El N es liberado a la atmósfera por los microorganismos que viven en la corteza de los árboles donde las epífitas y hemiepífitas han extendido sus raíces, en estas es asimilando el N que va siendo liberado. Nadkarni *et al.* (2000) demuestran que en un ecosistema boscoso, el N es retenido en más de un 80% en forma de NO<sub>3</sub> en el dosel del bosque, y la reducción de nitritos y nitratos es efectuada por la ferredoxina quien es donador fisiológico de electrones en el proceso de reducción (Vega y Menacho 1990). Las plantas analizadas en este estudio muestran intervalos suficientes de N, por los que no es una limitante para la formación de aminoácidos y las funciones al inicio mencionadas.

El fósforo (P) es quizás el elemento más móvil en la planta, circula en ella como fosfato monobásico, interviene en la formación de nucleoproteínas, ácidos nucleicos y fosfolípidos, es fundamental para la respiración, división celular, síntesis de azúcar, grasas, proteínas, regula el pH en la célula y participa en los procesos de generación de energía (Salisbury y Ross, 1991). En el presente estudio las hojas 18 en ambas condiciones lumínicas presentaron valores por debajo de los presentados por Domínguez (2005) y sólo en H18>L ésta en el rango mínimo señalado por Cibes *et al.* (1946). Es fundamental notar que el P, a pesar de ser un elemento movable en las plantas y generalmente transferido de las hojas maduras a las jóvenes, en este estudio los resultados de los análisis foliares no muestran diferencias de P en hojas maduras o jóvenes, por lo que se supone que para *V. planifolia* todas las hojas son importantes para el funcionamiento fisiológico de la planta en el sistema agroforestal o bien la hoja 18 no es lo suficientemente vieja para ceder el fósforo. Las hojas bajo sombra tienen una concentración estadísticamente mayor de fósforo que las expuestas a la luz según la prueba de Tukey (Anexo 5).

El tercer elemento de gran importancia para las plantas es el potasio (K), cuando éste se encuentra dentro de las plantas interviene en los procesos de síntesis de proteínas, almidones y azúcares, activa las enzimas y forma sales con los ácidos orgánicos e inorgánicos que ayudan a regular el potencial osmótico celular (Theil *et al.*, 1997). El porcentaje de K en las hojas jóvenes en ambas condiciones de intensidad lumínica es mayor que el de las hojas más maduras, esto probablemente es debido a que el potasio es removido fácilmente de las hojas por la lluvia y las hojas maduras tienen más tiempo expuestas a las condiciones ambientales. El análisis 2x2 factorial demuestra que no existe efecto de la luz sobre la concentración de potasio en las hojas ( $Pr > F 0.5921$ ) (Anexo 5), pero si existe un efecto altamente significativo en cuanto a la relación entre la edad de la hoja y la concentración de potasio ( $Pr > F 0.0036$ ).

La concentración de calcio (Ca) en las hojas jóvenes y maduras que se encuentran en mayor exposición de luz es mayor que la de Ca en H5<L y H18<L, pero todas están por debajo del valor mínimo obtenido por Domínguez (2005), aunque se encuentran por arriba del caracterizado como bajo (1.92) según los resultados de Cibes *et al.* (1946). El análisis factorial indica que no existe efecto de la luz sobre la concentración de Ca en las hojas

(Pr>F 0.4013) pero, sí existe una relación altamente significativa entre la edad de la hoja y la concentración de Ca en ella (Pr>F 0.0034).

El magnesio (Mg) en las hojas de ambas condiciones de FFF mostró concentraciones por arriba de las obtenidas por Domínguez (2005). El análisis estadístico indica que no existe efecto de la sombra sobre la concentración de Mg en las hojas (Pr>F 0.1585) y tampoco la existe por la edad de la hoja sobre la concentración de Mg (Pr>F 0.876) (anexo5), estos resultados sugieren que la disponibilidad de Mg no limita el desarrollo o producción de la *V. planifolia* en un sistema agroforestal y sus funciones como catalizador enzimático deben de estar operando sin problemas en las plantas. Al parecer la intensidad de luz en el sistema agroforestal y su relación con los macro elementos en la mayoría de los casos, no parecen interferir en la eficiencia fotosintética de la vainilla

La prueba de Tukey (Anexo 5) demuestra que las H5>L tienen una concentración estadísticamente igual de sodio (Na) que H5<L. La concentración de sodio está por debajo de la encontrada por Domínguez (2005) lo que podría afectar la difusión de líquidos al interior de las células.

Los contenidos de hierro (Fe) son altos en el suelo, lo que favorece en la planta los mecanismos de respiración y fijación de N. El resultado del análisis factorial 2x2 (Anexo 5) indica que la luz no ejerce ningún efecto sobre el contenido de hierro en los tejidos foliares (>luz Pr>F 0.2676). La prueba de Tukey (Anexo 5) señala que las hojas jóvenes presentan una concentración de hierro similar que las maduras. Por lo tanto el Fe no es ningún limitante en el desarrollo de la *V. planifolia*. Otro elemento que parece no ser limitante para el buen funcionamiento de la planta es el cobre (Cu), como lo refleja el análisis estadístico (Anexo 5) ya que muestra que no existen diferencias estadísticas significativas por efecto de la luz en la concentración de cobre en las hojas Pr>F 0.4440 y tampoco existe efecto de la edad de la hoja sobre la concentración de cobre Pr>F 0.6015. Es poco visto que el cobre sea suministrado para compensar alguna deficiencia en los cultivos de vainilla, ya que requieren mínimas cantidades y el suelo casi siempre dispone de suficiente (Cepeda, 2007).

En este estudio se muestra que las condiciones de luz no limitan la absorción de zinc (Zn), ya que la prueba de Tukey con  $\alpha = 0.05$  de >L tienen una concentración similar al

contenido de Zn de las <L, lo que explica que las plantas que están creciendo en ambas condiciones de luz tengan hojas grandes. El manganeso (Mn) tampoco presentó diferencias entre condiciones de luz o edad de las hojas. Sin embargo, su concentración foliar se encuentra por debajo de las presentadas por Domínguez (2005), pero aun así parece no afectar a las plantas ya que nunca presentaron deficiencias o síntomas visuales de la deficiencia de Mn, y es importante mencionar que tanto deficiencias de Zn como de Mn rara vez son vistas en plantas (Salisbury y Ross, 1991).

El boro (B) es un elemento inmóvil dentro de las plantas, que juega un papel importante en el proceso de regulación del metabolismo de carbohidratos en la planta, y este elemento, al igual que el Mn se encuentra por debajo de los valores obtenidos por Domínguez (2005). Esta condición no está dada por la presencia o ausencia de luz en las hojas de la planta ya que no existe efecto de la sombra sobre la concentración de boro en las hojas ( $Pr > F 0.8224$ ).

#### **5.4 Análisis de raíces aéreas y terrestres**

Los resultados de los análisis de laboratorio (Anexo 3) muestran que en raíces que tienen contacto con el suelo de las plantas que se encuentran expuestas a <L, tienen contenidos de N, P y K más altos que las raíces de las plantas expuestas >L, como se aprecia en la Figura 8, esto puede ser porque la evaporación del agua en el ambiente es más lenta dejando así por más tiempo la humedad en la corteza del forofito y suelo dando oportunidad a absorber más nutrimentos. Es importante mencionar que el K es superado casi el doble de su concentración en las raíces aéreas comparado con las raíces que tienen contacto con el suelo. Las mayores concentraciones de N en las raíces en contacto con el suelo pueden deberse a que en el suelo existen microorganismos que degradan la materia orgánica y, a su vez, éstos vuelven disponible el N para las plantas, por lo tanto debe de ser fundamental que una planta de *V. planifolia* tenga contacto con el suelo para satisfacer sus necesidades de nitrógeno.



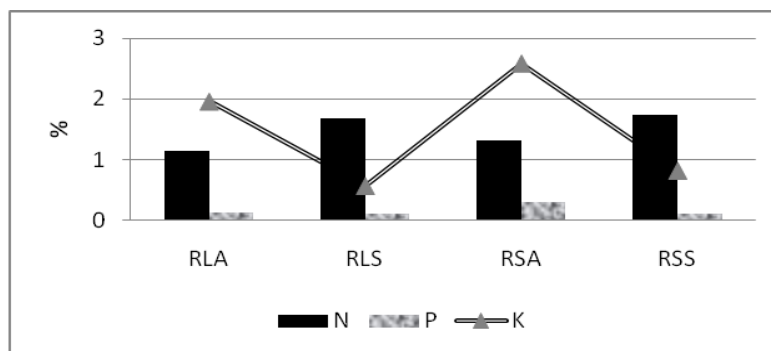


Figura 8. Concentración de N, P, K en raíces de *Vanilla planifolia*. RLA = Raíz aérea en exposición mayor de Luz; RLS = Raíz en suelo en exposición mayor de luz; RSA = Raíz aérea en exposición menor de luz; RSS = Raíz en suelo en exposición menor de luz.

Las concentraciones de magnesio (Mg) son mayores en las raíces que tienen contacto con el suelo para ambas condiciones de FFF (Figura 9), entre ellas la concentración es ligeramente mayor en las plantas que están expuestas a mayor intensidad de luz, la abundancia de este elemento en las raíces en contacto con el suelo se debe a que precisamente la fuente de Mg se encuentra en el suelo y es absorbido como  $Mg^{2+}$ . Las raíces aéreas son las que presentan mayor porcentaje de Ca, probablemente por qué el calcio es acumulativo y un elemento inmóvil en el tejido de las plantas (Bennett y Adams, 1970). El grupo de plantas bajo <L presentó el mayor porcentaje de Ca en comparación a las que se encuentran >L, esto probablemente sea porque en el sitio donde la intensidad lumínica es menor, el agua tarda más en evaporarse, lo que permite que se dé una mejor absorción de Ca. El sodio (Na) es fundamental en el intercambio de moléculas de agua y el mayor porcentaje se encontró en las raíces que tienen contacto con el suelo para ambas condiciones de FFF.

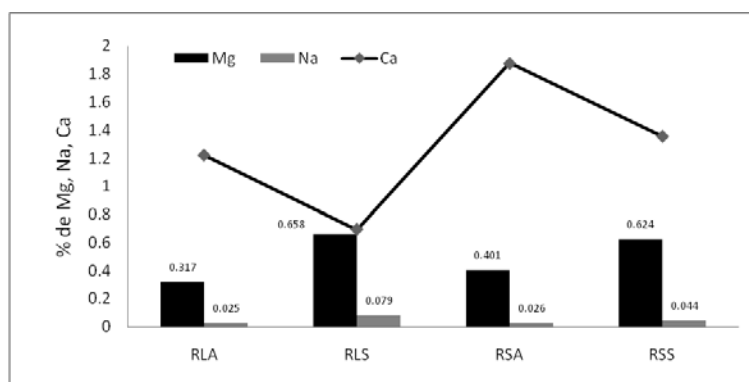


Figura 9. Concentración de Mg, Na y Ca en raíces aéreas y terrestres de las plantas de *V. planifolia* en diferentes concentraciones de flujo de fotones para fotosíntesis.

Los microelementos por lo general son ignorados en los análisis de plantas o en los programas de fertilización, pero se debe de recordar que si alguno de estos elementos no es cubierto en su totalidad, la planta puede no dar los resultados máximos de producción e incluso puede no alcanzar su ciclo reproductivo. Los resultados de los análisis de raíces muestran que existe una fuerte presencia de los microelementos dentro de ellas. Las concentraciones de hierro (Fe) para las raíces que tienen contacto con el suelo resultan ser mayores a las de las raíces aéreas, esto es debido a que la fuente de Fe es el suelo y no se encuentra disponible en el aire.

El contenido de cobre (Cu) más alto lo presentaron las raíces aéreas (Tabla 9) del sitio >L y el de menor alcance numérico se presentó en las raíces aéreas de las plantas que tienen <L, lo que sugiere que la asimilación de Cu parece no estar determinada por la superficie con la que se encuentre en contacto la raíz. Existe una marcada diferencia en la concentración de Zn en las raíces aéreas, con dos veces la cantidad que presentan las raíces que tiene contacto con el suelo, y en el caso del Mn el patrón es inverso. El B es absorbido en forma del ión borato ( $\text{BO}_3^{3-}$ ) y la mayor concentración se localizó en las raíces aéreas correspondientes en las plantas en menor intensidad lumínica, en general para >L las raíces aéreas son las que presentan mayor contenido de B.

Tabla 9. Microelementos en las raíces de vainilla

Clave	Microelementos (mg/kg)				
	Fe	Cu	Zn	Mn	B
RLA	277.92	15.25	62.68	98.1	23.99
RLS	4431.00	17.25	23.19	278.46	14.68
RSA	1141.14	22.56	76.45	106.65	37.93
RSS	1620.20	16.69	37.88	251.9	22.13

### 5.5 Análisis edafológico del sistema agroforestal

Para la interpretación de los datos del suelo se consideró básicamente la condición de luz en que se encontraron las plantas de vainilla, es decir mayor intensidad lumínica (>L) y las que se encontraron en menor intensidad lumínica (<L).

El enfoque agroecológico define al suelo como un sistema dinámico en el cual ocurren cambios y transformaciones producto de la interacción de procesos físicos,

químicos y biológicos; estos procesos ocurren en forma simultánea y producen al final un sustrato que brindará nutrientes, agua y sostén a las plantas y otros organismos (Altieri, 1999). La fertilidad de un suelo es sumamente importante en el buen desarrollo y productividad de los cultivos agrícolas, siendo *V. planifolia* una planta de hábitos hemiepífitos el suelo es su punto de partida, y con buena fertilidad, proporcionará los compuestos apropiados, en las cantidades debidas y el balance adecuado para el crecimiento de las plantas. Cuando otros factores como la luz, temperatura y condiciones físicas del suelo intervienen en la fertilidad del suelo se pueden presentar cambios importantes en el desarrollo de las plantas (Hernández y Morales, 2000).

De acuerdo con la clasificación de la Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000 (que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestras y análisis), los resultados del pH, que se muestran en la Figura 10, presentan un valor de 5.25 en las condiciones de >L, esto significa que es un suelo moderadamente ácido, mientras el suelo <L tiene un valor de 4.98 indicando un suelo fuertemente ácido. La acidez del suelo en este caso probablemente se deba a la aplicación de sulfato de cobre y cal para controlar a *Monilia rozeri* Cif y Par, Monilaceae que afecta a los árboles de cacao, y las aplicaciones se hacen con mayor frecuencia en el sitio con mayor sombra.

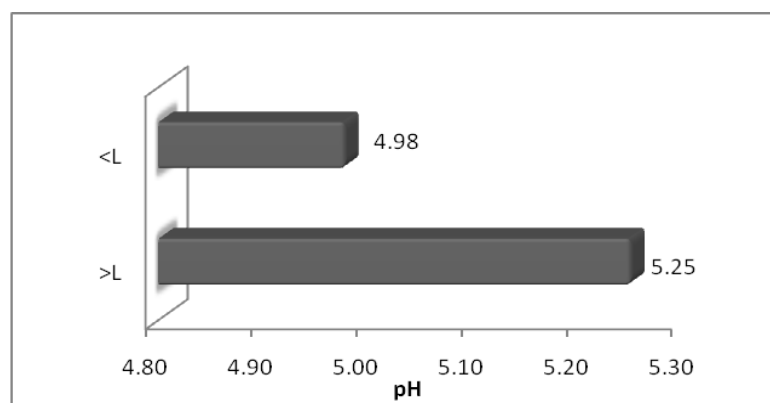


Figura 10. Resultado del análisis del pH del suelo de la parcela agroforestal donde se tiene cultivada la *Vanilla planifolia*. >L= sitio expuesto a mayor radiación fotosintéticamente activa, <L= sitio expuesto a menor radiación fotosintéticamente activa.

De acuerdo a la clasificación de suelos ácidos templados y tropicales propuesto por Soil Survey Staff (2003) el suelo en el que se encuentran las plantas de *V. planifolia* de este

estudio pueden presentar baja o mediana disponibilidad de fósforo y calcio para ambos casos de intensidad lumínica y sólo el suelo que se encuentra en mayor intensidad de sombra podría limitar la disponibilidad de fósforo y azufre.

En una parcela agroforestal la acumulación de materia orgánica del suelo (MOS) es fundamental para mantener la fertilidad del mismo (Bellow y Nair, 2003). Según la clasificación de Tavera (1985) para el suelo en ambas intensidades de luz, la MOS es considerada alta (Figura 11), los resultados de este estudio coinciden con los obtenidos por Elorza *et al.* (2001) para una plantación de vainilla, donde además encontraron que el tutor tiene efectos directos sobre las propiedades químicas del suelo, *Gliricidia sepium* (Jacq) Steud., perteneciente a la familia de las Leguminosas, incrementa los valores de materia orgánica.

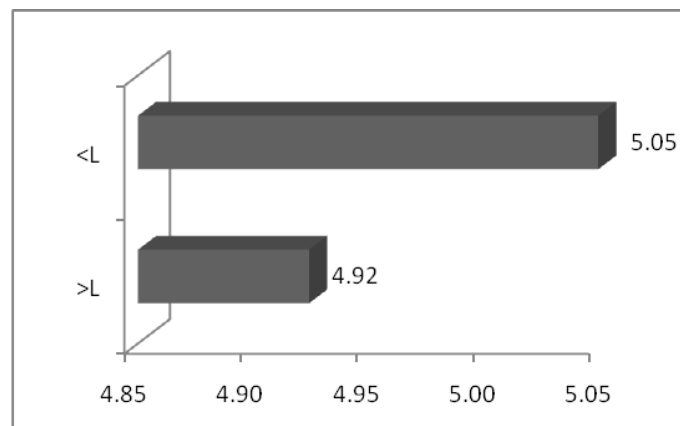


Figura 11. Porcentaje de materia orgánica en el suelo donde se tiene *Vanilla planifolia*.

La descomposición de la hojarasca ayuda a la liberación de nutrientes, en este sentido la relación carbono/nitrógeno (C/N) se ha considerado desde hace varios años como un índice de la calidad de la hojarasca (Álvarez-Sánchez y Harmon, 2003). Al respecto Padilla-Vega *et al.* (2005) encontraron que la relación C/N en un cacaotal es de 9 a 10.5, la velocidad de descomposición de la hojarasca va de baja a mediana. Los resultados del análisis de nitrógeno (Anexo 3) del estudio del suelo en el área de >L y <L muestran valores de 0.28 y 0.26 respectivamente, ambos valores son altos, no obstante es importante poner de manifiesto que los valores totales de N sólo son un índice para estimar la posible disponibilidad de nutrientes ya que la planta absorbe los nutrientes en forma mineral ( $\text{NO}_3$ ,  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_2$ ) (NOM-021-RECNAT-2000).

El fósforo presentó un valor de 6.41 y 7.32 para el área de suelo con <L y >L respectivamente. Según la CSTPA (1980), el fósforo cae dentro de la categoría media cuando presenta intervalos de 5.5 a 11 mg kg<sup>-1</sup>. El P es un elemento de poca movilidad en el suelo, en general a una profundidad de 0-20cm las plantas comienzan a tener pelillos absorbentes o raíces secundarias para facilitar la absorción de este elemento, principalmente, a través del proceso denominado difusión (Solórzano *et al.*, 2001). En el caso de *V. planifolia* la raíz no penetra más allá de los 20 cm de profundidad pero se puede extender horizontalmente hasta 1.40m (Sánchez, 1997) ampliando así el área de absorción de fósforo en el sistema de producción.

La concentración de potasio (K) para el suelo >L presenta un valor de 0.36 que es considerado medio (0.3 a 0.6 cmol kg<sup>-1</sup>) y el suelo <L presenta un valor de 0.23 que es interpretado como bajo de acuerdo a la clasificación de Etchevers (1988). Es poco recomendable aplicar K en forma de cloruro de potasio (KCl) como indica Aguado *et al.* (2002), para elevar la concentración de K en el suelo ya que las raíces de la *V. planifolia* pueden resultar afectadas por la generación de calor del KCl al entrar en contacto con el agua del suelo, por lo que se recomienda elaborar composta empleando estiércol de bovino que tiene de 2.11 a 2.45% de K<sub>2</sub>O en su composición (Restrepo, 2006) y es de fácil acceso para el productor, además de que en su asimilación no son afectadas las raíces de *V. planifolia*. Domínguez (2005) comenta que la fertilización con una dosis de 168 kg de N, 112 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y 75 kg de K<sub>2</sub>O por hectárea, suministrados mediante riego por goteo promovió significativamente la producción de biomasa en plantaciones de dos años de edad.

Con base en los contenidos de arcilla, limo y arena, el suelo para ambas áreas es considerado como un migajón arcilloso-arenoso, cuya textura le confiere al suelo un drenaje moderado, con gran capacidad para retener humedad, sin embargo, estas características a la vez pueden favorecer la pérdida de N por desnitrificación. Las arcillas predominantes en suelos como el estudiado, son las ilitas y las montmorillonita (Soil Survey Staff, 2003).

## VI. CONCLUSIONES

Los registros más bajos del flujo de fotones para fotosíntesis (FFF) observados en el experimento fueron de 62.3 en condiciones de poda severa y de 33.3  $\mu\text{mol fotones m}^{-2}\text{s}^{-1}$  para el área de sombra densa, obtenidos en el mes de diciembre, sin embargo, eso no limitó la actividad fotosintética de la vainilla ya que se registraron valores por arriba de 1.28  $\mu\text{mol fotones m}^{-2}\text{s}^{-1}$  para ambas condiciones de intensidad lumínica.

Los rangos de fotosíntesis ( $A$ ) para *V. planifolia* no fueron afectados por la cantidad de luz recibida, entonces el flujo de fotones para fotosíntesis tanto en los sitios sombreados como en los sitios con alta intensidad de luz, no representan una limitante para el crecimiento de las plantas de *V. planifolia*.

La planta de *V. planifolia* mostró su mayor rango de actividad fotosintética en el mes de noviembre a las 07:00 h en la hoja 18 de las plantas en menor exposición solar.

La asimilación de  $\text{CO}_2$  se manifestó de las 19:00 a las 07:00 h con diferentes valores durante el periodo de la evaluación y presentó valores de cero o cercanos a cero de las 10:00 a las 16:00 h, y dentro de este lapso las plantas de vainilla pudieron asimilar pequeñas cantidades de  $\text{CO}_2$ , pero probablemente debido a que existía una alta nubosidad. Por todo ello, se concluye que *V. planifolia* es una planta CAM, además presenta alta similitud con la curva de asimilación de  $\text{CO}_2$  presentado la *V. fragrans*.

Tanto las raíces aéreas como las que tienen contacto con el suelo tienen funciones de asimilación de nutrimentos importantes para el desarrollo de *V. planifolia*. Las raíces de las plantas que se encontraron en el área de mayor sombra presentaron valores más altos de N, P, K, probablemente porque los troncos y suelo tardaban más en secarse o filtrar el agua.

En las condiciones de mayor área sombreada el suelo tiene un pH de 4.98 que lo ubica como un suelo fuertemente ácido, lo que puede limitar la disponibilidad de P, Cu y Ca para las plantas. Las plantas expuestas a mayor flujo de fotones para fotosíntesis están sobre un suelo moderadamente ácido (5.25 de pH) el cual puede limitar la disponibilidad de P.

Las concentraciones de P en la condición de menor incidencia de luz fueron más altas tanto en hojas jóvenes como en maduras, en comparación con las plantas expuestas a mayor intensidad lumínica. Sin embargo, eso no afectó el rango fotosintético de ninguna de las plantas.

El sistema agroforestal de cacao diversificado resultó ser favorable para la producción de *V. planifolia* ya que no se notaron problemas o síntomas visuales en cuestiones de desnutrición o alteraciones fisiológicas de las plantas.

## VII. RECOMENDACIONES

En general las plantas de vainilla no presentaron problemas de ningún tipo en relación con la cantidad de luz recibida, pero sería recomendable mantener siempre un sombreado que deje pasar aproximadamente el 40% de la luz incidente, ya que fue el porcentaje de luz filtrada en el mes de noviembre, cuando se registró el valor más alto de fotosíntesis.

Aunque las plantas de vainilla son de crecimiento indeterminado, es recomendable mantener una altura de tres metros pues la luz recibida a esa distancia de los árboles de sombra del cacao no limita sus funciones metabólicas y facilita las labores culturales.

El tutorado o guiado de las plantas de vainilla se deberá hacer horizontal, de tal modo que todas las hojas puedan estar expuestas a la luz, dado que tanto las hojas jóvenes como las viejas resultaron ser fotosintéticamente activas.

Las aplicaciones de sulfato de cobre o cal pueden reducirse si se recogen las mazorcas de cacao infestadas después de cada ciclo de producción (de cacao), debido a que estas aplicaciones alteran el pH y con ello la disponibilidad de nitrógeno y azufre para las plantas de vainilla.

El sistema agroforestal de cacao es favorable para la producción de vainilla, siempre y cuando se realicen podas a los árboles de sombra y cacao para que no se forme un dosel muy espeso, así entrará suficiente luz a la plantación y disminuirá la humedad relativa, factor detonante de los hongos fitopatógenos en cacao.



## VIII. LITERATURA CITADA

- Aguado, L. G., Etchevers-Barra, J. D., Hidalgo-Moreno, C., Galvis-Espindola, A y A. Aguirre-Gómez. 2002. Dinámica del potasio en suelos agrícolas. *Agrociencia* 36 1:11-22
- Alconero, R. 1968. Infection and development of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* in roots. *Phytopathology* 58: 1281-1283.
- Altieri, M. A. 1999. Agroecología: Bases científicas para una agricultura sustentable. Nordan-Comunidad, New.York. 325p.
- Álvarez-Sánchez, J y M. E. Harmon. 2003. Descomposición de hojarasca, hojas y madera. En: Álvarez-Sánchez, J y Naranjo-García, E. (Ed) Ecología del suelo en la selva tropical húmeda de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ecología. 108-122.
- Ames, B. D., Profet, M y G. Swirsky. 1990. Sustancias químicas naturales y sintéticas: Toxicología comparativa. 137-160., En: Ames, B., Profet, M. y Gold, L. S. Word Wilde Foundation. Protocolos de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos.
- Andrade, J. L. 2003. Dew deposition on epiphytic bromeliad leaves: an important event in a Mexican tropical dry deciduous forest. *Journal Tropical Ecological* 19: 479-488.
- Andrade, J. L., De la Barrera, E., Reyes-García, C., Ricalde, F. M., Vargas-Soto, G y C. J. Cervera. 2007. El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad, fisiología ambiental y productividad. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 81:37-50.
- Andrade, J. L., Rengifo, E., Ricalde, R. M., Sima, J. L., Cervera, J. C. y S.G. Vargas. 2006. Microambientes de luz, crecimiento y fotosíntesis de la pitahaya (*Hylocereus undatus*) en un agrosistema de Yucatán, México. *Agrociencia* 40(06): 687-697.
- Baldini, E. 1992. Arboricultura general. Escuela de Ingeniería Técnica Agrícola. Universidad Politécnica de Madrid. Ediciones mundi- Prensa. Castellón.

- Barrera-Rodríguez, A. I., Herrera-Cabrera E. B., Jaramillo-Villanueva, J. L., Escobedo-Garrido, S. J y A Bustamente-González. 2009. Caracterización de los sistemas de producción de Vainilla (*Vanilla planifolia*. Andrews) bajo naranjo en malla sombra en el Totonacapal. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 10: 199-212.
- Bellow, J. G y P. K. R. Nair. 2003. Comparing common methods for assessing understory light availability in shaded-perennial agroforestry systems. *Agricultural and Forest Meteorology* 114: 197-211.
- Bennett, A. C y F. Adams. 1970. Calcium deficiency and ammonia toxicity as separate causal factors of  $(\text{NH}_4)_4\text{HPO}_6$  injury to seedling. *Soil Science Society. Am. Proc* 34:255-259.
- Bidwell, R. G. 1990. Fisiología vegetal. 1 edición. AGT Editor S.A. México. 245p
- Borland, A. M. y H. Griffiths. 1996. Variations in the phases of crassulacean acid metabolism and regulation of carboxylation patterns determined by carbon-isotope-discrimination techniques. *Crassulacean acid metabolism: biochemistry, ecophysiology and evolution*, eds. Winter K, & Smith J. A. C. Berlin. Springer-Verlag 230-249.
- Brodbeck, F., Hapla, F y R. Mitlöhner. 2003. Traditional forest gardens as “safety net” for rural households in Central Sulawesi, Indonesia. International Conference on Rural Livelihoods, Forests and Biodiversity 19-23 May, Bonn, Germany.
- Canham, C. D., Finzi, A. C., Pacala, S. W y D. H. Burbank. 1994. Causes and consequences of resource heterogeneity in forests-interspecific variation in light transmission by canopy trees. *Journal Canadian of Recherche Forestiere* 24: 337-349.
- Castillo M. R y E. Marck-Engleman. 1993. Caracterización de dos tipos de *Vanilla planifolia*. Centro de Botánica Colegio de Postgraduados, Montecillo Texcoco México. *Acta Botánica Mexicana* 25:49-59.

- Cepeda, D. J. M. 2007. Química de suelos. Universidad Autónoma Agraria, Antonio Narro, Trillas. 167 p.
- Chapman, H. D y P. F. Pratt. 2004. Métodos de análisis para suelos plantas y aguas, México: Trillas. 197 p.
- Cibes, R. H., Childers, N. F y A. J. Loustalot. 1946. Influence of mineral deficiencies on growth and composition of vanilla vines. *Plant Physiology* 291-299.
- Comisión Nacional del Agua. 2008. Base de datos de precipitación 2007-2008, estación meteorológica de Teapa, Tabasco, México. Sin publicar.
- Consejo Veracruzano de Vainilla. Estadísticas de producción agrícola 2000-2006 en versión electrónica. Visitada el 19 de noviembre del 2007. <http://www.inveder.gob.mx/congresoV/CONCLUSIONES%20Mesas%20%20Trabajo.pdf>
- CSTPA. 1980. Handbook on reference methods for soil testing. Revised Edition. Council of Soil Testing and Plant Analysis, Athens, Georgia USA. 459 p.
- Dignum, M. J., Kerler J y R. Verpoorte. 2007. Vanilla production: technological, chemical and biosynthetic aspect. *Food Reviews International* 17(2), 199-219.
- Dodd, A., Borland, A., Haslam, R., Griffiths, H y K. Maxwell. 2002. Crassulacean Acid Metabolism: plastic, fantastic. *Journal Experimental Botany* 53: 559-580.
- Domínguez, G. R. 2005. Crecimiento y niveles nutrimentales en *Vanilla planifolia*. Tesis de maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 59p.
- Elorza, M. P., López, H. M., Hernández, F. A. D., Olmedo P. G., Domínguez, B. C y J. M. M. García. 2001. Efecto del tipo de tutor sobre el contenido de vainilla y clorofila en vainas de vainilla (*Vanilla planifolia* Andrews) en Tuxpan, Veracruz, México. *UDO Agrícola* 7 (1):228-236.

- Etchevers, B. J. D. 1988. Interpretación de análisis químicos de suelos: Diagnostico de fertilidad del suelo. Curso intensivo. CEICADES-CP. H. Texcoco, Montecillos. 180-196.
- FAO. 2007. Vegetable production statistics. FAOStat. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Italia.
- FAO. 2009. Vegetable production statistics. FAOStat. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Italia. Falta espacio
- García, E., 1988, Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen, México, Larios.
- Gehrig, H., Faist, K y M. Kluge. 1998. Identification of phosphoenolpyruvate carboxylase isoform in leaf, stem and roots, of the obligate CAM plant *Vanilla planifolia* Jacks (Orchidaceae): a physiological and molecular approach. *Plant Molecular Biology* 38: 1215-1223.
- Giordano, M., Beardall, J y A. J. Raven. 2005. CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution. *Annual Review of Plant Biology* 56: 99-131.
- Havkin-Frenkel, D. French, J. C., Graft, N. M., Pak, F. E y C. Frenkel. 2004. Interrelation of curing and botany in vanilla (*Vanilla planifolia*) Bean. Future for Medicinal and Aromatic Plants. *Acta Hortícola* 629: 93-102.
- Hernández, H. H y S. Morales. 2000 Producción intensiva de vainilla INIFAP, Campo Experimental Ixtacuaco, Veracruz, México. 35 p
- Hernández-Apolinar, M. 1997. Crecimiento y reproducción de *Vanilla planifolia*. Tesis de maestría, Facultad de de Ciencias, UNAM, México. 72 p.
- INEGI. 2007. Anuario estadístico del estado de Chiapas. INEGI y Gobierno del estado de Chiapas. Aguascalientes, Aguascalientes. 367 p.

- INIFAP. 1993. Manual de producción de vainilla en el Estado de Veracruz. Campo experimental Papantla. Papantla, Veracruz, México. Decisión Agrícola, Folleto para productores No. 6 (2da Edición).
- Kahane, R., Pascale, B., Grisoni, M., Le Bellec, F y E. Odoux. 2008. Bourbon Vanilla: Natural Flavor with a Future. *Chronica Horticulturae* 48 (2): 23-28.
- Krömer, T., Kessler, M y S. R. Gradstein. 2007. Vertical stratification of vascular epiphytes in submontane and montane forest of the Bolivian Andes: the importance of the understory. *Plant Ecology* 189: 261-278.
- Lambers, H., Chapin, F. S. y T. L. Pons. 1998. Plant physiological ecology. Springer-Verlag, New York, New York. 540 p
- Lüttge, U. 2002. CO<sub>2</sub>-concentrating: consequences in crassulacean acid metabolism. *Journal Experimental Botany* 53: 2131-2142.
- Lüttge, U. 2007. *Clusia*. A woody neotropical genus of remarkable plasticity and diversity. Ecological Studies, Vol. 194. Berlin-Verlag: Springer-Verlag 139 p
- Montagnini, F. 1992. Sistemas Agroforestales: Principios y aplicaciones en los trópicos. Segunda edición. San José de Costa Rica. Organización para estudios tropicales. 622.p
- Montoya, H. F. 1963. Tecnología en el estudio de vainilla. Subsecretaria de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. SAGARPA, México, DF., México.
- Nadkarni, N. M. 1984. Epiphyte biomass and nutrient capital of a neotropical forest. *Biotropica* 16(4): 249-256.
- Nadkarni, N. M. 2000. Colonization of stripped branch surfaces by epiphytes in a lower montane cloud forest, Monteverde, Costa Rica. *Biotropica* 32: 358-363.

- Nadkarni, N. M., Mark, M y N. Jurgen. 2001. Forest Canopies, Plant diversity 27-40, En: Levin, S (Ed.). Encyclopedia of diversity. Academic Press, San Diego, California, EE.UU.
- Naturland. 2000. Vainilla. Agricultura orgánica en el Trópico y Subtrópico. Guías de 18 cultivos. 18 p. (Ed) Franz AuEtburger, Jörn Berger, Udo Censkowsky, Petra Heid, Joachim Milz y Christine Streit, Gräfelfing, Alemania.
- Nelson, E. A. y F. A. Sage. 2008. Functional constraints of CAM leaf anatomy: tight cell packing is associated with increased CAM function across a gradient of CAM expression. *Journal of Experimental Botany* 59:1841-1850.
- Nimmo, H. G. 2003. How to tell the time: the regulation of phosphoenolpyruvate carboxylase in crassulacean acid metabolism (CAM) plants. *Biochemical Society Transactions* 31: 1-3.
- Nobel, P. S. 1991. *Physicochemical and environmental plant physiology*. Academic Press. San Diego, CA, USA.
- Padilla-Vega, J., Palma-López, J. D., Cáliz, M. E., Rincón-Ramírez, J. A., Bolaina, C y V., Triano, S. A. 2005. Caracterización de suelos cacaoteros con manejo orgánico y convencional en la margen derecha del Río Seco, Cunduacán, Tabasco. 303-311. Memoria de la XVIII Reunión Científica-Tecnológica Forestal y Agropecuaria del estado de Tabasco, 3 y 4 de noviembre del 2005, Villahermosa, Tabasco.
- Palma-López. D. J., J. Cisneros D., E. Moreno C y J. A. Rincón-Ramírez. 2007. Suelos de Tabasco: su uso y manejo sustentable. Colegio de Postgraduados-ISPROTAB-FUBPROTAB. Villahermosa, Tabasco, México.
- Parra, Q. R. A. 1987. Cultivo in vitro y anatomía de óvulos de vainilla (*Vanilla planifolia* Andrews). Tesis de maestría. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 104 p.
- Pennington, T. D y J. Sarukhán. 2005. Árboles tropicales de México. Fondo de Cultura Económica, México. 523 p

- Pérez-Silva, A., Odoux, E y Z. Günata. 2007. Producción, beneficio y perfil aromático de la vainilla de la región de Tuxtepec. *Revista AGROproduce* 19:19-25.
- Puthur, J. 2005. Influence of light intensity on growth and crop productivity of *Vanilla planifolia* Andrew. *Gen. Appl. Plant Physiology* 31(3-4): 215-224
- Ramachandra-Rao. S y G. A. Ravishankar. 2000. Vanilla flavor: production by conventional and biotechnological routes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 289-304.
- Ranadive, A. S. 1994. Vanilla cultivation, curing, chemistry, technology and commercial products. (Ed). Charalambous, *Developments in Food Science*. Elsevier Science B.V., Amsterdam 34:517-576.
- Restrepo, R. J. 2006. Manual práctico: El A, B, C de la agricultura orgánica y harina de rocas, Fundación Produce Jalisco A.C. Guadalajara, Jalisco. 250 p.
- Salisbury, F. B y C. W. Ross. 1991. *Plant Physiology*, 4th edición. Wadsworth, Belmont, California. 682 p.
- Sánchez, L. F., Gamboa, E y J. Rincón. 2003. Control químico y cultural de la moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif y Par) del cacao (*Theobroma cacao* L.) en el estado Tabasco. *Agrociencia* 20:188-194.
- Sánchez, M. S. 1997. Caracterización de los principales sistemas de producción comercial de *Vanilla planifolia* en México. Tesis de maestría, Colegio de Postgraduados Montecillo Estado de México. 102 p
- SAGARPA. 2007. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). [www.anuario/sagarpa/datos.gob.mx](http://www.anuario/sagarpa/datos.gob.mx) visitada el 22 de julio del 2009.
- SEMARNAT. 2000. NOM-021-RECNAT Especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Semarnat. México. 88 p.

- Secretaría de Economía. 2009. Norma Mexicana NMX-FF-074-SCFI-2009, productos no industrializados para uso humano – vainilla - *Vanilla fragrans* (salisbury) Ames – especificaciones y métodos de prueba (cancela a la nmx-ff-074-scfi-1996). Diario Oficial de la Federación. El 24 de enero del 2009
- Smith, R. L y T. M. Smith. 2001. Ecología. Cuarta Edición. Pearson Education S.A. Madrid. 664 p
- Soil Survey Staff. 2003. Keys to Soil Taxonomy. United States Department of Agriculture Natural Resources Conservation Service, Washington, D.C.
- Solórzano, P. P. R., Jiménez, R y O. Silva. 2001 Movimiento vertical de diferentes fuentes de fósforo en dos suelos de textura contrastantes. *Venesuelos* 2 (2): 86-88.
- Soto-Arenas, M. A. 2006. La vainilla: Retos y perspectivas de su cultivo. *Biodiversitas* No. 66. Mayo-junio: 1-9.
- Tavera, G. G. 1985. Criterios para la interpretación y aprovechamiento de los reportes de laboratorio para las áreas de asistencia técnica. Publicación 3. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Delegación de la Laguna, Matamoros, Coahuila. 23p.
- Theil, E.C., Burton, J.W y J. L. Beard. 1997. A sustainable solution for dietary iron deficiency through plant biotechnology and breeding to increase seed ferritin control. *Eur. J. Clin. Nutr.* 51 Suppl. 4:S28-S31
- Toussaint-Samat, M. 2002. La Vainilla, un “extracto” ampliamente utilizado por la industria de alimentos en el mundo. *Claridades Agropecuarias* No.101. Enero: 17-26.
- Valladares, F. 2001. Características mediterráneas de la conversión fotosintética de la luz en biomasa: de órgano a organismo. Páginas: 67-94 En: R. Zamora y F. I. Pugnaire, edit. Aspectos funcionales de los ecosistemas mediterráneos. CSIC-AEET, Granada.
- Valladares, F., Sánchez, D y M. A. Zavala. 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity. *Journal of Ecology* 94: 1103-1116.



- Vareschi, V. 1953. Sobre las superficies de asimilación de sociedades vegetales de cordilleras tropicales y extratropicales. *Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales* 79:121-173
- Vega, J. M y A. Menacho. 1990. Regulation of inorganic nitrogen metabolism in *Chlamydomonas reinhardtii*. 73-78. Editado por Ullrich, C. En *Inorganic Nitrogen in Plants and Microorganism*. Springer-Verlag Berlin. falta espacio
- Winter, K y J. A. C. Smith. 1996. An introduction to crassulaceam acid metabolism: biochemical principles and biological diversity. En: *Crassulaceam Acid Metabolism. Biochemistry, Ecophysiology and evolution*, eds. Winter, K. y Smith J. A. C., 1-13, Springer, Berlin.
- Woda, C. 2004. Biomasse und Vegetationsstruktur von temperierten Regenwäldern in Chile (Cordillera Pelada). *Forstarchiv* 75(1): 3-12.
- Wu, C y J. R. Morris. 2001. Genes, genetics, and epigenetics: A correspondence. *Science* 293: 1103-1105.
- Zotz, G y K. Winter. 1993. Short-Term regulation of crassulaceam acid metabolism activity in a tropical hemiepiphyte, *Clusia uvitana*. *Plant Physiol* 102: 835-841.

## IX. ANEXOS

9.1 Anexo 1. Resultados del análisis del flujo de fotones para fotosíntesis (FFF) utilizando la fórmula propuesta por Bellow y Nair (2003).

$$\text{Estimación de flujo de fotones para fotosíntesis} = \left[ I_{cb}/I_{ca} - 1 \right] \times 100$$

Radiación fuera de la plantación	Área de sombra	Área de descope
328.5	252.6	312.6
261.5	129.0	223.4
518	348.4	503.8
1659.5	927.9	1519.6
1697.5	682.5	1513.4
103.5	33.3	62.2
355.5	146.3	302.8
1895.5	423.0	1499.8
1643.6	396.2	1239.5

9. 2 Anexo 2. Resultado de los análisis foliares

Mes	Condición de muestreo	Hoja	N	P	K	%				Fe	Cu	Zn	Mn	B
						Ca	Mg	Na	Cl					
Julio	Luz	5	1.96	0.05	1.61	4.05	0.63	0.01	57.44	7.64	36.50	25.42	2.14	
		18	1.82	0.05	1.75	3.64	0.61	0.01	58.64	6.52	51.12	15.26	1.60	
	Sombra	5	1.89	0.04	1.61	3.78	0.51	0.02	58.66	6.64	49.58	26.94	2.70	
		18	1.82	0.04	1.55	4.62	0.53	0.05	44.92	7.32	41.18	32.10	2.26	
	Luz	5	1.89	0.04	1.85	4.05	0.49	0.00	98.08	8.48	57.72	25.74	2.91	
		18	1.89	0.05	1.77	3.72	0.66	0.01	93.12	7.00	62.94	22.06	2.16	
Agosto	Sombra	5	1.96	0.05	1.83	4.32	0.67	0.01	80.8	8.92	56.24	20.90	2.19	
		18	1.89	0.04	1.61	2.63	0.41	0.02	48.24	7.58	31.44	20.96	2.26	
	Luz	5	2.05	0.12	2.97	3.27	0.48	0.03	115.3	9.02	61.32	37.45	32.87	
		18	1.78	0.09	2.23	3.60	0.43	0.02	97.7	8.21	49.38	35.79	29.06	
	Sombra	5	2.18	0.12	2.98	2.95	0.63	0.05	345.73	21.52	73.49	56.31	18.47	
		18	1.89	0.09	2.31	3.21	0.53	0.03	266.56	18.32	63.94	67.43	16.71	
Septiembre	Luz	5	1.95	0.27	3.87	2.67	0.48	0.06	201.49	14.86	121.36	71.45	23.33	
		18	2.04	0.21	2.80	3.68	0.37	0.04	142.6	11.61	115.08	56.18	19.40	
	Sombra	5	2.21	0.36	4.37	2.32	0.68	0.03	117.98	12.35	97.05	76.39	32.05	
		18	1.38	0.26	3.12	2.87	0.63	0.03	139.84	9.31	103.53	61.46	27.78	
	Luz	5	2.09	0.34	5.68	2.50	0.53	0.01	977.40	17.13	130.76	110.70	38.04	
		18	1.40	0.12	3.75	2.70	0.50	0.03	240.17	9.94	119.02	78.60	22.35	
Octubre	Sombra	5	2.06	0.34	5.27	2.34	0.56	0.04	181.18	14.38	68.08	81.90	27.26	
		18	1.88	0.30	4.25	2.74	0.53	0.03	158.23	20.19	88.41	68.56	29.48	
	Luz	5	2.12	0.30	5.90	2.46	0.56	0.03	364.22	12.81	188.11	86.75	19.07	
		18	1.76	0.21	4.99	3.87	0.64	0.02	154.37	12.44	63.55	70.67	24.05	
	Sombra	5	2.09	0.34	5.19	2.95	0.72	0.02	93.45	14.56	62.62	60.38	22.83	
		18	1.59	0.24	3.10	3.53	0.68	0.02	113.90	7.13	30.38	71.46	18.41	
Luz	5	1.45	0.33	5.87	2.49	0.57	0.08	114.90	6.31	65.41	75.53	23.94		
	18	1.20	0.22	3.99	4.01	0.74	0.09	146.72	12.63	144.09	78.91	20.35		



### 9.3 Anexo 3. Resultados de análisis de raíces y suelo

Resultado de los análisis de laboratorio a raíces												
Tipo de raíz y condición a exposición solar	N <sub>T</sub>	P	K	Ca	Mg	Na	Fe	Cu	Zn	Mn	B	Microelementos (mg/kg)
Raíz aérea en exposición mayor de luz	1.15	0.128	1.96	1.221	0.317	0.025	277.92	15.25	62.68	98.1	23.99	
Raíz en suelo en exposición mayor de luz	1.69	0.106	0.569	0.692	0.658	0.079	4431	17.25	23.19	278.46	14.68	
Raíz aérea en exposición menor de luz	1.32	0.302	2.59	1.877	0.401	0.026	1141.1 <sup>4</sup>	22.56	76.45	106.65	37.93	
Raíz en suelo en exposición menor de luz	1.73	0.113	0.821	1.355	0.624	0.044	1620.2	16.69	37.88	251.9	22.13	

Resultados de los análisis de laboratorio al suelo												
Condición	pH (H <sub>2</sub> O) rel. 1:2	CE dS m <sup>-1</sup>	MO %	N mg kg <sup>-1</sup>	P Olsen mg kg <sup>-1</sup>	K cmol(+) kg <sup>-1</sup>	Arcilla %	Limo %	Arena %	Clasificación Textural	Microelementos (mg/kg)	
											Zn	B
Sol	5.25	0.09	4.92	0.28	7.32	0.36	26	20	53	Migajón Arcilloso-Arenoso	98.1	23.99
Sombra	4.98	0.05	5.05	0.26	6.41	0.23	26	18	55	Migajón Arcilloso-Arenoso	251.9	22.13

9. 4 Anexo 4. Resultados de análisis estadísticos factorial 2x2 en las hojas de *V. planifolia*

Variable dependiente N

Fuente	DF	Anova SS	Media	F-valor	Pr>F
Rep	7	2.27015088	0.32430727	30.51	<.0001
L	1	0.03062813	0.03062813	2.88	0.1089
S	1	0.03062813	0.03062813	2.88	0.1089
J	1	0.53302813	0.53302813	50.15	<.0001
L*J	1	0.00945312	0.00945312	8.9	0.3597
V	1	0.53302813	0.53302813	50.25	<.0001

Variable dependiente K

Fuente	DF	Anova SS	Media	F-valor	Pr>F
Rep	7	56.40719572	8.05817082	23.19	<.0001
L	1	0.10385403	0.10385403	0.3	0.5921
S	1	0.10385403	0.10385403	0.3	0.5921
J	1	4.02641253	4.02641253	11.59	0.0036
L*J	1	0.17184453	0.17184453	0.49	0.492
V	1	4.02641253	4.02641253	11.59	0.0036

Variable dependiente Ca

Fuente	DF	Anova SS	Media	F-valor	Pr>F
Rep	7	6.795499	0.97078557	3.35	0.0214
L	1	0.21549613	0.21549613	0.74	0.4013
S	1	0.21549613	0.21549613	0.74	0.4013
J	1	3.421728	3.421728	11.8	0.0034
L*J	1	0.01044012	0.01044012	0.04	0.8519
V	1	3.421728	3.421728	11.8	0.0034

Variable dependiente: Mg

Fuente	DF	Anova SS	Media	F-valor	Pr>F
Rep	7	0.08825245	0.01260749	1.11	0.406
L	1	0.02496495	0.02496495	2.19	0.1585
S	1	0.02496495	0.02496495	2.19	0.1585
J	1	0.0002868	0.0002868	0.03	0.876
L*J	1	0.00180901	0.00180901	0.16	0.6957
V	1	0.0002868	0.0002868	0.03	0.876

Variable dependiente: Fe

Fuente	DF	Anova SS	Media	F-valor	Pr>F
Rep	7	0.08825245	0.01260749	1.11	0.406
L	1	27172.4672	27172.4672	1.32	0.2676
S	1	27172.4672	27172.4672	1.32	0.2676

J	1	44521.28	44521.28	2.16	0.1608
L*J	1	22515.481	22515.481	1.09	0.3113
V	1	44521.2800	44521.28	2.16	0.1608

Variable dependiente: Cu

Fuente	DF	Anova SS	Media	F-valor	Pr>F
Rep	7	237.4390469	33.9198638	2.22	0.0889
L	1	9.4286531	9.4286531	0.62	0.444
S	1	9.4286531	9.4286531	0.62	0.444
J	1	4.3438781	4.3438781	0.28	0.6015
L*J	1	0.1582031	0.1582031	0.01	0.9203
V	1	4.3438781	4.3438781	0.28	0.6015

Variable dependiente: B

Fuente	DF	Anova SS	Media	F-valor	Pr>F
Rep	7	1.336613	1.336613	0.05	0.8224
L	1	1.336613	1.336613	0.05	0.8224
S	1	1.336613	1.336613	0.05	0.8224
J	1	63.3938	63.3938	2.47	0.1356
L*J	1	1.78605	1.78605	0.07	0.7953
V	1	63.393800	63.3938	2.47	0.1356

## 9.5 Anexo 5. Resultados de la prueba de Tukey.

Tabla x. Resultado de la prueba de Tukey  $\alpha = 0.05$  para P

	Valor de la media	Condición
B	0.1778	Luz
A	0.2038	Sombra

Medias con diferente letra son significativamente diferentes

Tabla x. Resultado de la prueba de Tukey  $\alpha = 0.05$  para Na

	Valor de la media	Condición
A	0.031955	Luz
A	0.029900	Sombra

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Tabla x. Resultado de la prueba de Tukey  $\alpha = 0.05$  para Fe

	Valor de la media	Hojas
A	201.28	Jóvenes
A	126.68	Viejas

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Tabla x. Resultado de la prueba de Tukey  $\alpha = 0.05$  para Zn

	Valor de la media	Condición
A	89.49	Luz
A	66.92	Sombra

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes



9.6 Anexo 6. Acuse de recibido del artículo y artículo.

**JSA email**

<[jsa@agroecology.org](mailto:jsa@agroecology.org)>

Para [adamon@ecosur.mx](mailto:adamon@ecosur.mx)

Enviado por:

[journal.ofsa@gmail.com](mailto:journal.ofsa@gmail.com)

cc

13/04/2010 12:06

Asunto: JSA 72-10

Dear Dr. Damon,

This is to acknowledge your submission of the manuscript "**Photosynthesis of Vanilla Planifolia Andrews (Orchidaceae) in a Diversified Cocoa Plantation**" to the Journal of Sustainable Agriculture. Your manuscript has been assigned the code JSA 72-10.

We will be contacting you as soon as we can regarding its review.

Thank you for your support of the Journal.

Bethany Hecht

Assistant to Stephen R. Gliessman Editor, JSA  
Ruth and Alfred Heller Professor of Agroecology  
Program In Community and Agroecology  
Building A-1, Lower Quarry  
Mailstop: PICA  
Department of Environmental Studies  
University of California  
Santa Cruz, CA 95064  
[jsa@agroecology.org](mailto:jsa@agroecology.org)

# PHOTOSYNTHESIS OF *VANILLA PLANIFOLIA* ANDREWS (ORCHIDACEAE) IN A DIVERSIFIED COCOA PLANTATION.

Padilla-Vega José<sup>1</sup>, Damon Anne<sup>1</sup>, Obrador Olán José Jesús<sup>2</sup>, Lagunes-Espinoza Luz del Carmen<sup>2</sup>, Holguín Meléndez Francisco<sup>1</sup>

<sup>1</sup>El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Tapachula, Carretera Antigua Aeropuerto, Tapachula, Chiapas (jopave@gmail.com) (adamon@ecosur.mx). <sup>2</sup>Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco, carretera Cárdenas-Huimanguillo km 2.5 (obradoro@colpos.mx) (lagunes@colpos.mx).

## ABSTRACT

*Vanilla planifolia* is a protected species in Mexico and represents an underexploited natural resource in that country. We studied the Photosynthesis Rate (A) and CO<sub>2</sub> of young and old leaves of *V. planifolia* exposed to two levels (high and low) of solar radiation, in a diversified agroforestry system centred on cocoa (*Theobroma cacao*) in Chiapas, Mexico, in which the maximum and minimum Photosynthetically Active Radiation (PAR) levels reaching the vanilla plants were 1519 and 33.3  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  respectively. The results suggest that absorption of CO<sub>2</sub> by young (leaf 5) and mature (leaf 18) leaves of vanilla plants in both high and low light levels is very similar and that absorption of CO<sub>2</sub> is neither favoured nor inhibited by high and low PAR levels. CO<sub>2</sub> assimilation occurred mainly between 16:00 and 07:00 hrs and stomatal closure occurred between 10:00 and 14:00 hrs. This study confirms that *V. planifolia* has the characteristics of a CAM plant and that young and mature leaves participate equally in photosynthetic activity. The highest PAR was 2.338  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  in leaf 18 in the lower PAR condition. *V. planifolia* was shown to be tolerant of both high and low light conditions, and cocoa plantations, with variable shade levels, may therefore be considered as compatible with vanilla cultivation which could offer an important alternative income source for cocoa growers.

Key words: Photosynthetically active radiation, CO<sub>2</sub>, vanilla, photosynthesis, CAM, orchids.

## INTRODUCTION

The orchid *Vanilla planifolia* Jacks originates from Central America with the centre of domestication in Mexico where it is cultivated either intensively, or within different agroecosystems, such as secondary forest within the slash and burn rotation system, cocoa plantations and orange groves etc. Due to unsustainable (but also inefficient) exploitation this orchid is now very rare in the wild and is a protected species in Mexico (NOM-ECOL-059, 2002). A production of 1.2 t ha<sup>-1</sup> was demonstrated in orange groves in the region of Totonacapan, the main vanilla producing zone which extends into the Mexican states of Puebla, Veracruz and México (Barrera-Rodríguez *et al.*, 2009). However, as has occurred with many high-demand crop plants the vast majority of world vanilla production comes from other countries such as Madagascar, Indonesia and China where vanilla is an introduced species (INEGI, 2009). In the state of Chiapas, cocoa production is undergoing a process of diversification, introducing compatible crops such as heliconias for cut flowers and vanilla, to improve the economic status of impoverished farmers and in the hope of avoiding the elimination of cocoa plantations which are an important refuge for local biodiversity and are also part of the cultural

history of the region. Shaded cocoa plantations typically have high relative humidity levels of 94 - 95% and average temperatures of approximately 23°C, which favour the presence of up to 54 species of epiphytes, including various species of orchids (Harro-Carrion *et al.*, 2008). Under these conditions the shade trees intercept between 50 - 73% of the incident Photosynthetically Active Radiation (PAR), (Morera & Mora, 1991), leaving only 20 – 30% to reach the cocoa trees (Díaz-Camacho *et al.*, 2005).

Solar radiation has been one of the principal drivers of plant evolution, and plants have developed different strategies to manage and defend themselves against excesses and deficiencies of this energy source. Plants detect quantitative and qualitative changes in intensity, direction and periods of sunlight, and respond with various adaptive physiological responses (Medina, 1987; Baldini, 1992; Roberts *et al.*, 1997). One of the most important processes involved is the fixation, or assimilation of carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) from the air for the manufacture of carbohydrates within plant cells, using sunlight as energy, and plants may be classified as C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> or CAM (Crassulacean Acid Metabolism) depending upon the mechanism used to fix CO<sub>2</sub> (Lüttge, 2007). Approximately 10% of living plants are epiphytes or hemiepiphytes which use structures already formed by other plants, such as the trunks and branches of lianas, shrubs and trees, to gain better access to sunlight, which is very important in the abundant and dense vegetation of tropical forests wherein competition for light and water is ferocious. These plants have evolved adaptations to overcome stressful daily extremes and fluctuations of nutrients, light, temperature and humidity (Motomura *et al.*, 2008). Approximately 20,000 vascular plants have adapted to epiphytic or other stressful modes of existence by developing CAM photosynthesis which allows stomata to remain closed during daylight hours to avoid excesses of evapotranspiration, (Salisbury & Ross, 1991; Sayed, 2001), including members of the families Cactaceae, Agavaceae, Bromeliaceae and Orchidaceae. In CAM plants, CO<sub>2</sub> is fixed during the night and decarboxylated during the day (Nobel, 1991; Salisbury & Ross, 1991; Winter & Smith, 1996; Osmond *et al.*, 1999; Lüttge, 2002). Other adaptations may include exaggerated forms of water storage such as: succulence, impermeable cuticles, foliar trichomes and rosette morphology (Brighigna *et al.*, 1990). In the particular case of the Orchidaceae, nearly 50% of species have CAM photosynthesis (Silvera *et al.*, 2005), along with various forms of succulence which ensures sufficient water for CO<sub>2</sub> assimilation and a positive carbon balance. However CO<sub>2</sub> assimilation mainly depends upon the quantity of radiation available and some species of cacti tend to have positive linear response to increasing solar radiation (Nobel, 1991). CAM plants may be classified as facultative or intermediate C<sub>3</sub>-CAM, capable of varying their photosynthetic mode and may return to C<sub>3</sub> as a response to favourable levels of water, relative humidity, air temperature, quantity of light and photoperiod (Borland & Griffiths, 1996). Nelson & Rowan (2008) concluded that *Vanilla fragrans* (Salisb.) Ames is an obligate CAM plant, totally dependent upon phase I and II for assimilation of CO<sub>2</sub>. *Vanilla planifolia*, however, has other adaptations to manage low incident light levels, such as the zigzag simpodial growth which maximises the light that reaches each individual leaf, including the older, inferior leaves. Palama *et al.* (2010) found differences in the content of acetic acid, saccharose and malic acid between old and young leaves of *V. planifolia* which may have implications for photosynthetic efficiency for which reason we included the age factor of leaves in our study. This study sought to evaluate the response of *V. planifolia* to the extremes (high and low) of photosynthetically active radiation available in a diversified cocoa agroforestry system

with the aim of evaluating the compatibility of vanilla with cocoa cultivation including the effects of heavy pruning of the shade trees.

## MATERIALS AND METHODS

The study was carried out in the municipality of Ixtacomitán, in the state of Chiapas, México (597m. 17°27'18.45" latitude and 93°05'41.84" longitude). According to the classification of Köppen modified by García (1988), the climate is Am with rain all year, and 3,500 mm annual rainfall. Land use is primarily agriculture and cattle ranching (32% communal, 68% private property). (INEGI, 2009), with fragments of tropical evergreen forest.

The study site was a diversified cocoa plantation, established in 2000, undergoing the process of certification as an organic plantation, and with a density of vanilla plants of 800ha<sup>-1</sup>. The principal tree species in the site were: *Gliricidia sepium* (Jacq) Steud., *Erythrina folkersii* Krukoff, Moldenke (Fabaceae), *Brosimum alicastrum* Sw., *Ficus cotinifolia* Kunth, (Moraceae), *Cecropia obtusifolia* Bertol, (Cecropiaceae), *Cordia alliodora* Ruiz (Boraginaceae), *Theobroma cacao* L., (Sterculiaceae), *Cedrela odorata* L., (Meliaceae), and there was also production of *Heliconia psittacorum* and *H. latispatha* Benth (Musaceae) as cut flowers. The vanilla crop was managed in the traditional way using living stakes made from *G. sepium* to train the vanilla stems upwards to a maximum height of 2m, beyond which pollination by hand and harvesting become too difficult. From there, the tips of the stems are directed back downwards towards the ground where they form adventitious roots and new shoots, which are once more directed upwards on a new *G. sepium* stake. This process is repeated four times a year, with no set dates as *V. planifolia* has indeterminate growth and each plant grows and develops at its own pace. Weeds are cut back manually and keeping the vanilla plants clear of weeds is important to avoid competition for nutrients and the invasion of pests and diseases that prosper amongst the weeds. The tutors sprout and are pruned once they have five or six branches so as to not exceed four meters. The plantation was organic and no chemical or synthetic product was applied.

Two plots were chosen with different conditions of incident light. The plot with high light levels (measured as Photosynthetically Active Radiation, or PAR), (>L) consisted of three vanilla plants growing near severely pruned cocoa and shade trees thus effectively creating a clearing. The plot with low PAR, (<L) had three vanilla plants growing under unpruned cocoa and shade trees which cast a deep shade.

The photosynthesis rate (A) (equivalent to CO<sub>2</sub> assimilation), along with transpiration rate (E) were measured using a LCi Ultra Compact Photosynthesis System (ADC Bioscientific Herts, UK), with a standard cell for broad leaves (6.25 cm<sup>2</sup>). Measurements were made using the central part of the fifth (H5) and eighteenth (H18) leaf (determined counting from the first mature leaf back from the growing tip), carrying out three repetitions for each leaf at intervals of two minutes, and without changing the angle of the leaf. During each sampling session the measurements were made every 3h during a period of 24h starting at 04:00 h and finishing at 01:00 h the next day. In addition, PAR was measured at midday (12.00 – 14.00h) in each plot using a Quantum Photosynthetic Photon Flux Meter, placed at an altitude of 130 cm above the ground and oriented towards each cardinal point in turn. In total, seven samples were made, one per month, from July 2008 to January 2009, which includes the post and pre

flowering periods of *V. planifolia*. Measurements were incomplete for January because of the untypical, torrential rain that fell during that month.

For the analysis of the PAR data we used analysis of variance and the Tukey test ( $\alpha=0.05$ ) and for all other comparisons (Photosynthetic Rate (A), transpiration rate (E) and stomatal conductance ( $g_s$ )) we used the t test.

## RESULTS

### Photosynthetically Active Radiation (PAR) and Photosynthesis Rate (A)

The PAR in July was 312.5 and 252.5  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  in the high (>L) and low (<L) light level plots, respectively, and for the months of August, September, October and November the PAR was higher in the (>L) plots by a margin of 94.5, 155.4, 591.7 and 830.9  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , respectively. October was the month in which the highest PAR was registered in both plots, and November the second highest. The lowest PAR was recorded in December, with 62.219 and 33.29  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  in (>L) and (<L), respectively (Fig. 1). Statistical analysis confirmed a significant difference between the incident light in the study plots ( $P \leq 0.001$ ).

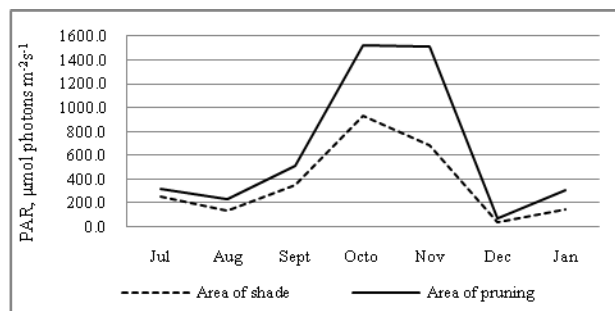


Figure 1. Photosynthetically Active Radiation (PAR) incident in the two sites with different light levels established to study the photosynthesis of *V. planifolia*.

At the beginning of the study, A in July was numerically slightly higher for H5>L as compared with H5<L (Fig. 2), for H18>L and H18<L values of 0.91 and 1.23  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  were obtained, respectively.

In August the highest A was registered for H18<L, at 2.131  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , and the older H18 leaves had higher levels of photosynthetic activity than the H5 leaves in both light conditions.

For the month of September the highest A was registered for H18<L at 2,338  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  and the lowest value for H5 was 1.37338  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  registered for H5<L.

In October, similar levels A were recorded for both age and light categories and at the same time the highest level of PAR for the whole experimental period was recorded of 1.10  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  in H18<L.

In November, A was higher for both H5 and H18 in the >L plot. The lowest A for the whole experimental period was recorded for 18H<L at 0.57  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , and a significant difference was recorded for H18 between the two light levels ( $P=0.09$ ).

The most homogenous results were obtained for December where A for H5>L, was  $1.299 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$  and for H5<L  $1.367 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . For the older leaves, values of  $1.279$  and  $1.472 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$  were obtained for H18>L y H18<L respectively.

During the month of January, despite the constant rain, the vanilla plants had A values above  $1.20 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . The results for H5>L and H5<L were  $1.38$  and  $1.29 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$  respectively, and these values were to those obtained for the mature leaves for which the highest value was  $1.37$  registered for H18<L.

By comparing Figures 1 and 2 the results indicate that lower levels of PAR favor A for mature leaves of vanilla since during the months of July, August and September, with lower PAR values, the highest A values were recorded for H18<L, whereas during the months of higher PAR levels A levels were lower.

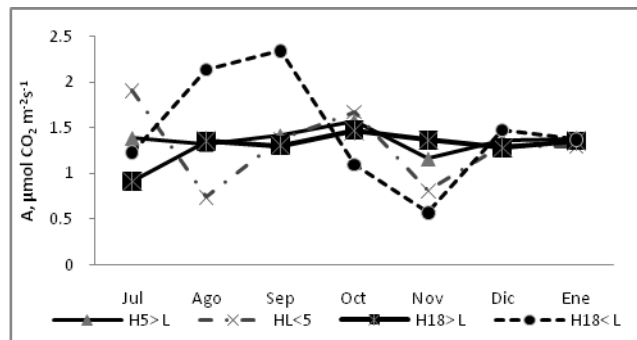


Figure 2. Photosynthesis Rates (A) for *V. planifolia*: H5>L, A in the fifth leaf exposed to greater levels of Photosynthetically Active Radiation (PAR); H5<L, A in the fifth leaf exposed to lower levels of PAR; H18>L, A in the eighteenth leaf exposed to greater levels of PAR; H18<L, A in the eighteenth leaf exposed to lower levels of PAR.

### Diurnal Variation of photosynthesis and transpiration rates

Throughout the study period of A occurred mainly between 19.00 and 07.00hrs, with values of zero, or close to zero, during the period 10.00-16.00hrs. Transpiration occurred between 14.00 and 04.00hrs in both light levels.

As can be seen in Figure 3, for the month of July, the maximum A by young leaves (H5) of *V. planifolia* exposed to high light levels (H5>L) was  $0.32 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$  registered at 19:00h. In comparison, for H5 exposed to low light levels (H5<L), the highest value was  $0.18 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , recorded at 16:00 h. There was no significant difference between the two light levels for H5 ( $P=0.27$ ). In Figure 4 shows values for the older leaves (H18), and in July, for H18<L and H18> L the highest values were recorded at 22:00 h and 16:00 h respectively, measuring  $0.22$  and  $0.37 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ .

Transpiration rate levels in July were highest and most prolonged for H5>L at  $0.59 \mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , 19.00-10.00hrs, respectively, as compared to the values for H5<L of  $0.51 \mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , 19.00-07.00hrs, respectively. The lowest values for transpiration rate occurred at 13:00h, at which time there was zero assimilation of  $\text{CO}_2$ , due to stomatal closure.

For August, the highest A for H5>L was  $0.41 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  at 01:00 h and for H5<L the highest rate occurred at 16:00 h with a reading of  $0.19 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . For the older leaves, the highest A recorded was for H18<L, at  $0.94 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$  at 22:00 h.

In September, A for H5 was highest at 10:00 h in both light conditions, and ceased from 13:00 to 19:00 h for H5>L and one hour later for H5<L, from 14:00 to 07:00 h. The interval of more than twelve hours without CO<sub>2</sub> assimilation for H5<L gave rise to a significant difference between the two light conditions ( $P=0.02$ ). The highest A was recorded for H5>L with a value of  $0.30 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$  at 10:00 h. Transpiration in the low light level plot only occurred between 04:00 and 07:00 h for both leaf ages.

As shown in Figures 3 and 4, in October values for A fell to below zero in both light conditions but most notably in the case of H5<L, from 07:00 to 04:00 h. The highest level of COA was registered in H18>L, at 22:00 h  $0.27 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Zero transpiration was registered in the low light intensity plots during the 24 sampling period, whereas minimum levels were recorded for H5 and H18 in the high light levels plot during the period 21.00-01.00hrs. The fact that A was reduced to negative values during the month of October, implies high respiratory activity and probably a cessation of growth. This pattern was observed to coincide with the change to shorter days, which also coincided with flowering of the vanilla plants in the study site.

In November the highest A was  $0.10 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$  recorded at 07.00hrs for H5>L, and H5<L presented very low values and only between 19.00 and 01.00hrs. In the low light level plot both young and older leaves transpired between 14.00 and 22.00 hrs, whereas in the high light level plot, transpiration was minimal and highly variable in time.

For December differences between the two light conditions were notable for H5, with higher and more constant A for H5>L. No transpiration rate was recorded for H18 in either light level between 07.00 and 13.00hrs. Transpiration occurred for H5<L between 16.00 and 04.00hrs, but only at 22.00hrs for H5>L.

In January, there was a slight significant difference ( $P=0.09$ ) for A between H5 in the two light levels, because for H5>L A was maintained for a shorter period than for H5<L (07.00-10.00 and 04.00-13.00hrs respectively). A was constant for H18 in both light levels, except for H18>L for which no A was recorded at 07.00hrs. Transpiration was continuous for H18<L for the 24hrs of sampling but ceased for H18>L, H5<L and H5>L between 07.00 and 13.00hrs.

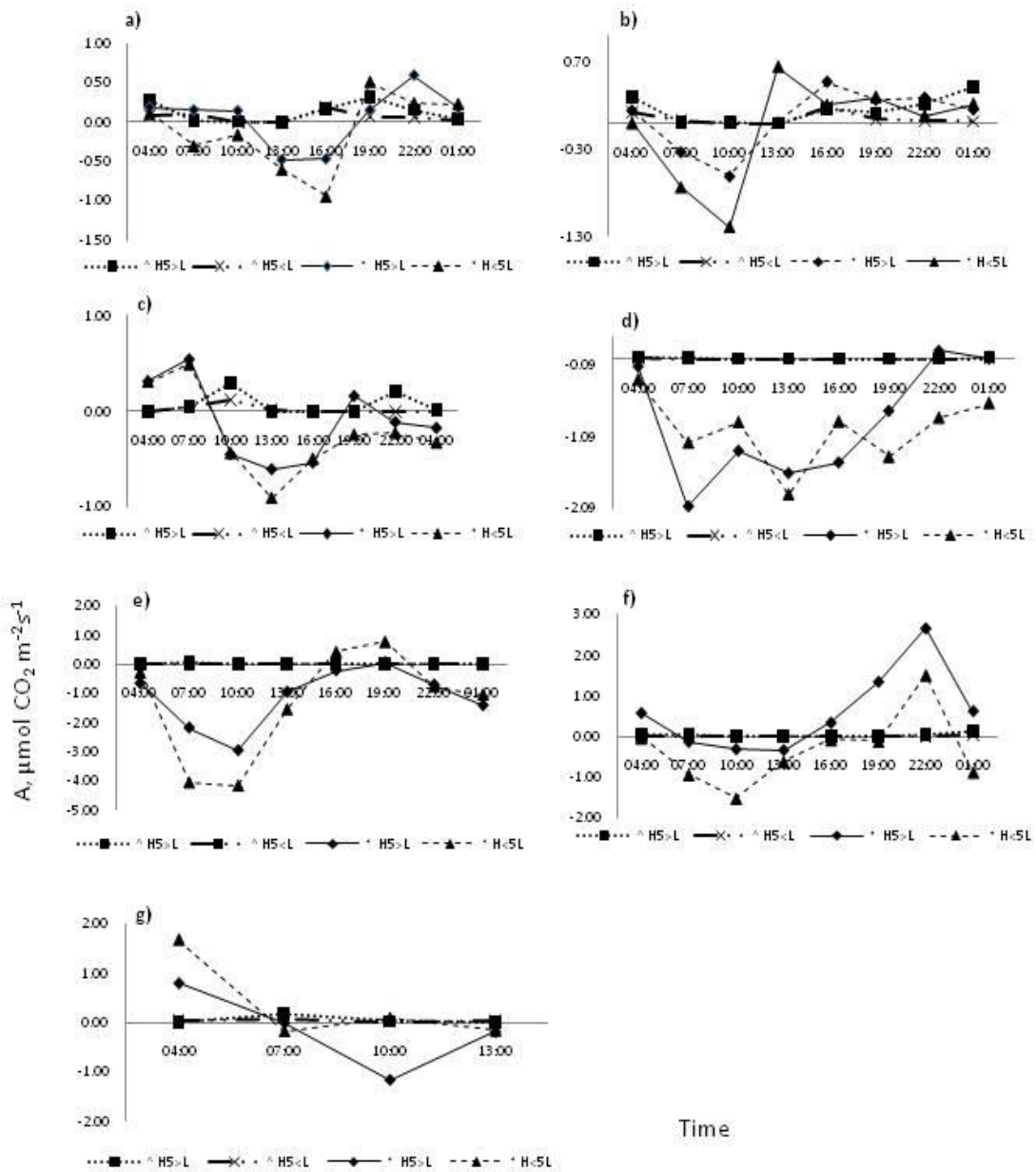


Figure 3. Rate of photosynthesis (A,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Data marked \*) and transpiration (E,  $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Data marked ^) for younger leaves (H5) of *Vanilla planifolia* for the months of a) July, b) August, c) September, d) October, e) November, f) December, g) January: H5>L, the fifth leaf exposed to greater levels of Photosynthetically Active Radiation (PAR); H5<L, the fifth leaf exposed to lower levels of PAR.



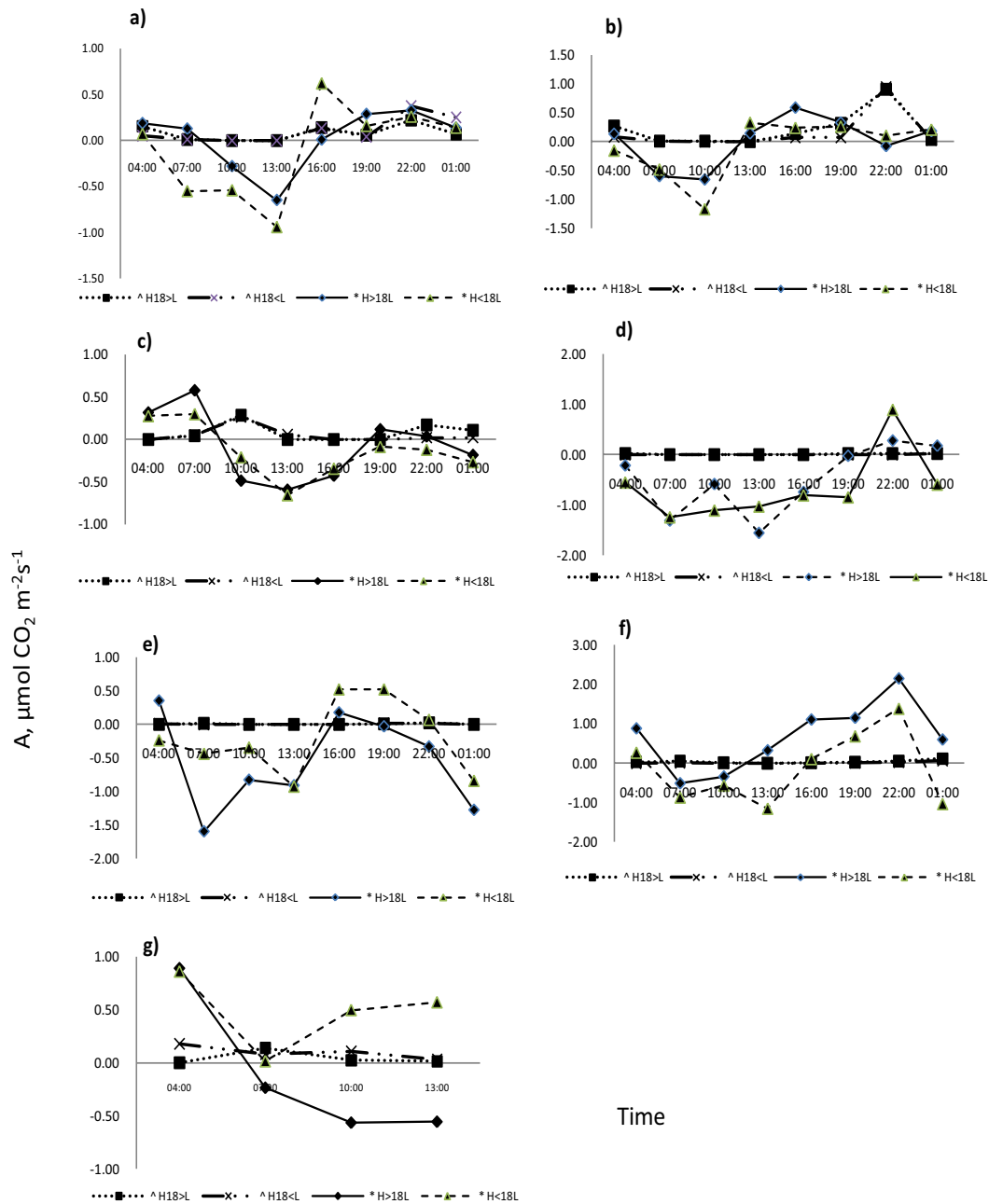


Figure 4. Rate of photosynthesis (A,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Data marked \*) and transpiration (E,  $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Data marked ^) for older leaves (H18) of *Vanilla planifolia* for the months of a) July, b) August, c) September, d) October, e) November, f) December, g) January: H18>L the eighteenth leaf exposed to greater levels of PAR; H18<L, the eighteenth leaf exposed to lower levels of PAR.

## DISCUSSION

The results obtained in this study suggest that *V. planifolia* opens its stomata at night as do CAM plants. However, for the months of July, August, September, December and January there was fixation of CO<sub>2</sub> during the period 10:00 to 16:00h, possibly due to the thick cloud cover and/or rain that occurred before sampling began, and during the sampling period in the case of January, and this could indicate that *V. planifolia* is a facultative CAM plant and under suitable conditions can also fix CO<sub>2</sub> during daylight hours.

In our study, assimilation of CO<sub>2</sub> by the leaves of the vanilla plants was not affected by the PAR reaching them and young and older leaves (H5 and H18) were shown to be equally photosynthetically active. One explanation for this could be that the high humidity typical of the region raises the vapour pressure and, as suggested by Andrade *et al.* (2006), low vapour pressure may favour gas exchange as occurs in the CAM species *Hylocereus undatus* (Haworth), Britton y Rose (Cactaceae), and this could have reduced the impact of the different light intensities in the two study sites. *V. planifolia* is a hemiepiphyte and begins its life in the more stable, dark, cool and humid conditions of the understory and flowers within the sunny upper stories of the agro or forest ecosystem where conditions are less stable and the range of light, temperatures and humidity is much more extreme. By contrast, true epiphytes germinate and grow directly within areas of higher levels of solar radiation. Vanilla plants also produce perennial leaves which increase the efficiency of capture of photons and contribute to the capacity for survival in conditions of deep shade, as well as eliminating the cost to the plant of constantly replacing leaves (Valladares *et al.*, 2006; Relyea, 2002). Furthermore, the zig-zag growth form and possibilities of modifying leaf angle to follow the light also contribute towards optimizing photon capture and prevent interference between leaves (Percy *et al.*, 2004).

When a clearing is formed, a chain reaction is set in motion starting with the colonization of the newly vacant site, followed by a succession and the formation of increasingly complex stratification and diversity of niches until the site returns eventually to its original condition, provided that adults and/or propagules of all component flora and fauna are present in the vicinity. In agroforestry plantations diversification and complex stratification are fundamental to permit maximum exploitation of solar radiation by a wide diversity of natural and cultivated elements, and *V. planifolia* would appear to be capable of adapting to the full range of variants to be found in cocoa plantations, from new clearings with high levels of PAR created by heavy pruning in more intensive plantations, to the dense shade of the traditional, unpruned cocoa plantations.

In this study, the percentage of photosynthetically active radiation reaching the vanilla plants in December, the month with the lowest light levels, was 32 and 60% in the low and high light level sites, respectively, and these values are higher than those registered in agroforestry plantations where levels as low as 2-7% has been registered (Gratani, 1997). CAM metabolism is linked to the environmental conditions (temperature, light intensity, relative humidity) and nutrient availability where the plants grow, all of which can modify photosynthetic response (Dodd *et al.*, 2002). The assimilation curve of CO<sub>2</sub> appears to coincide with that presented by Nelson and Sage (2008) for *V. fragrans*, and the results obtained by Gehrig *et al.* (1998) who mentioned, however, that the leaves and stems of *V. planifolia* have obligate CAM photosynthesis. Nonetheless, the

metabolic functions of *V. planifolia*, such as CO<sub>2</sub> assimilation transpiration, do not pose problems in a cocoa agroforestry system and vanilla, which is the second most expensive crop in the world, can be seen as a viable option for the diversification of this important agroecosystem which could offer important economic returns for cocoa producers.

## REFERENCES

- Andrade, J. L., Rengifo, E., Ricalde, R. M., Sima, J. L., Cervera, J. C. & Vargas, S. G. 2006. Microambientes de luz, crecimiento y fotosíntesis de la pitahaya (*Hylocereus undatus*) en un agrosistema de Yucatán, México. *Agrociencia* 40(06): 687-697.
- Baldini, E. 1992. *Arboricultura general. Escuela de Ingeniería Técnica Agrícola*. Universidad Politécnica de Madrid. Ediciones mundi- Prensa. Castellón.
- Barrera-Rodríguez, A. I., Herrera-Cabrera E. B., Jaramillo-Villanueva, J. L., Escobedo-Garrido, S. J & Bustamente-González, A. 2009. Caracterización de los sistemas de producción de Vainilla (*Vanilla planifolia*. Andrews) bajo naranjo en malla sombra en el Totonacapal. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 10: 199-212.
- Borland A. M. & Griffiths, H. 1996. Variations in the phases of crassulacean acid metabolism and regulation of carboxylation patterns determined by carbon-isotope-discrimination techniques. In: *Crassulacean acid metabolism: biochemistry, ecophysiology and evolution*, eds. Winter K, & Smith J. A. C. Berlin. Springer-Verlag 230-249.
- Brighigna, L., Fiordi, A. C. & Palandri, M. R. 1990. Structural comparison between free and anchored roots in *Tillandsia* (Bromeliaceae) species. *Caryologia* 43: 27-42.
- Díaz Camacho, A., Aceves Navarro, L. A., Juárez López, J. F. & Livera Muñoz, M. 2005. Eficiencia en la interceptación de la radiación fotosintéticamente activa en plantaciones de cacao (*Theobroma cacao* L.), bajo diferentes condiciones de sombreado, en el estado de Tabasco. XVIII Reunión Científica-tecnológica Forestal y Agropecuaria Tabasco 2005. 3 and 4 of November 2005, Villahermosa, Tabasco 312 - 321.
- Dodd, A., Borland, A., Haslam, R., Griffiths, H & Maxwell, K. 2002. Crassulacean Acid Metabolism: plastic, fantastic. *Journal Experimental Botany* 53: 559-580.
- García, E., 1988, Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen, México, Larios.
- Gehrig, H., Faist, K & Kluge, M. 1998. Identification of phosphoenolpyruvate carboxylase isoform in leaf, stem and roots, of the obligate CAM plant *Vanilla planifolia* Jacks (Orchidaceae): a physiological and molecular approach. *Plant Molecular Biology* 38: 1215-1223.
- Gratani, L. 1997. Canopy structure, vertical radiation profile and photosynthetic function in a *Quercus ilex* evergreen forest. *Photosynthetica* 33: 139-149.

- Haro-Carrión, X., Tannya, L., Navarrete, H & De Koning, G. H. J. 2008. Conservation of vascular epiphyte diversity in shade cacao plantations in the Choc'ó region of Ecuador. *Biotropica* 41(4): 520–529.
- INEGI. 2009. Anuario estadístico del estado de Chiapas. INEGI y Gobierno del estado de Chiapas. Aguascalientes, Aguascalientes.
- Lüttge, U. 2007. *Clusia*. A woody neotropical genus of remarkable plasticity and diversity. *Ecological Studies*, Vol. 194. Berlin-Verlag: Springer-Verlag 139 p
- Lüttge, U. 2002. CO<sub>2</sub>-concentrating: consequences in crassulacean acid metabolism. *Journal Experimental Botany* 53: 2131-2142.
- Medina, E. 1987. Aspectos ecofisiológicos de plantas CAM en los trópicos. *Biología Tropical* 35(1): 55-70.
- Motomura, H., Yukawa, T., Ueno, O. & Kagawa, A. 2008. The occurrence of crassulacean acid metabolism in *Cymbidium* (Orchidaceae) and its ecological and evolutionary implications, *Journal of Plant Research* 121: 163:177.
- Morera, J. & Mora, A. 1991. Evaluación de cacao híbrido bajo dos sistemas de sombra en Turrialba, Costa Rica. *Turrialba* 41(4): 572-577.
- Nelson, E. A. & Sage, F. A. 2008. Functional constraints of CAM leaf anatomy: tight cell packing is associated with increased CAM function across a gradient of CAM expression. *Journal of Experimental Botany* 59:1841-1850.
- Nobel, P. S. 1991. *Physicochemical and environmental plant physiology*. Academic Press. San Diego, CA, USA.
- Osmund, C. B., Maxwell, K., Popp, M. & Robinson, S. 1999. On being thick: fathoming apparently futile pathways of photosynthesis and carbohydrate metabolism in succulent CAM plants. In: *Carbohydrate metabolism in plants*, eds. Burrell M., Bryant J., & N. Kruger, 183-200. Oxford BIOS Scientific Publishers.
- Palama, T. L., Fock, I., Choi, H.Y., Verpoorte, R. & Hippolyte K. 2010. Biological variation of *Vanilla planifolia* leaf metabolome. *Phytochemistry* doi:10.1016/j.phytochem.2009.12.011
- Pearcy, R. W., Valladares, F., Wright, S. J. & Lasso de Paulis, E. 2004. A functional analysis of the crown architecture of tropical forest *Psychotria* species: do species vary in light capture efficiency and consequently in carbon gain and growth? *Oecologia* 139: 163–177.
- Relyea, R. A. 2002. Costs of plasticity. *American Naturalist* 159: 272-282.
- Roberts, A., Borland, A. M. & Griffiths, H. 1997. Discrimination processes and shifts in carboxylation during the phases of crassulacean acid metabolism. *Plant Physiology* 113: 1283–1292.
- Salisbury, F. B & Ross, C. W. 1991. *Plant Physiology*, 4th edición. Wadsworth, Belmont, California. 682 p.

- Sayed, O. H. 2001. Crassulacean acid metabolism 1975-2000 a check list. *Photosynthetica*. 39: 339-352. Dio: 10.1023/A:1020292623960.
- SEMARNAT. 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2001, Protección ambiental, Especies nativas de México de flora y fauna silvestre- Categoría de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio de lista de especímenes de riesgo. Diario Oficial, segunda sección. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos naturales. 153 p.
- Silvera, K., Santiago, L. S. & Winter, K. 2005. Distribution of crassulacean acid metabolism in orchids of Panama: evidence of selection for weak and strong models. *Functional Plan Biology* 32: 3007-407.
- Valladares, F., Sánchez, D. & Zavala, M. A. 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity. *Journal of Ecology* 94: 1103-1116.
- Winter, K. & Smith, J. A. C. 1996. An introduction to crassulacean acid metabolism: biochemical principles and biological diversity. In: Crassulacean Acid Metabolism. Biochemistry, Ecophysiology and evolution, eds. Winter, K. & Smith J. A. C., 1-13, Springer, Berlin.