

# CRECIMIENTO Y TASA DE INTERCAMBIO DE CO<sub>2</sub> DE MAGUEY PULQUERO (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck) OBTENIDO POR SEMILLA

## GROWTH AND CO<sub>2</sub> EXCHANGE RATE OF MAGUEY PULQUERO (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck) OBTAINED BY SEED

Sonia Teresa Cruz-Vasconcelos<sup>1</sup>, Lucero del Mar Ruiz-Posadas<sup>1,2\*</sup>, Edmundo García-Moya<sup>2</sup>,  
Manuel Sandoval-Villa<sup>3</sup>, Nicacio Cruz-Huerta<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fisiología Vegetal, <sup>2</sup>Botánica, <sup>3</sup>Edafología. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados.  
56230. Montecillo, Estado de México. (lucpo@colpos.mx)

### RESUMEN

La reproducción por semilla promueve la diversidad genética en el maguey (*Agave salmiana*), si la fertilización es la adecuada, podría incrementarse el crecimiento. En el maguey pulquero es una práctica poco común que es necesario estudiar, por lo cual los objetivos de esta investigación fueron: 1) evaluar el efecto del abono y la fertilización en el crecimiento; 2) determinar la tasa de intercambio de CO<sub>2</sub> (TIC) en dos condiciones de humedad del suelo, de tres variantes de *A. salmiana* (subsp. *crassispina*, var. *salmiana* y var. *ferox*) obtenidas de semilla y plantadas en San Bartolomé Actopan, municipio de Temascalapa, Estado de México. La hipótesis fue que las plantas tratadas con fertilización química tendrán mayor crecimiento que las abonadas y el testigo; y las plantas fertilizadas y abonadas tendrán mayor TIC en las dos condiciones de humedad del suelo. El diseño experimental fue completamente al azar con n=11 para variables de crecimiento, n=3 para contenido nutrimental y tasa de intercambio de CO<sub>2</sub>. El crecimiento se midió cada mes en plantas de 2.9 a 3.6 años; la tasa de intercambio de CO<sub>2</sub> se midió en plantas de 3.6 años con riego y 3.75 años con estrés hídrico. El abono con cerdaza favoreció la altura, el diámetro de la planta y el número de pencas. La subespecie *crassispina* mostró los valores más altos en las variables evaluadas y *A. salmiana* var. *salmiana* cultivada con fertilización destacó por los hijuelos emitidos. La tasa máxima de intercambio de CO<sub>2</sub> ocurrió entre las 22:00 y 02:00 h y fue mayor en plantas con humedad abundante en el suelo (riego) que en las plantas con humedad por debajo de marchitez permanente (PMP); en esta última condición, las plantas abonadas y fertilizadas tuvieron 60% más de asimilación que en el testigo.

### ABSTRACT

Reproduction by seed promotes genetic diversity in maguey (*Agave salmiana*), and if fertilization is adequate, it can increase growth. In pulque maguey, although reproduction by seed is not a common practice, its study is necessary. For this reason, the objectives of this study were 1) to evaluate the effect of organic and chemical fertilization on growth and 2) to determine the CO<sub>2</sub> exchange rate (CER) in two conditions of soil moisture in three variants of *A. salmiana* (subsp. *crassispina*, var. *salmiana* and var. *ferox*) obtained from seed in San Bartolomé Actopan, municipality of Temascalapa, State of Mexico. The hypothesis was that plants treated with chemical fertilizer will have greater growth than those treated with organic fertilizer and the control, and plants fertilized with organic and chemical fertilizer will have a higher CER in two conditions of soil moisture. The experimental design was completely randomized with n=11 for growth variables, n=3 for nutrient content and CO<sub>2</sub> exchange rate. Growth was measured every month in 2.9- to 3.6-year-old plants, and CO<sub>2</sub> exchange rate was measured in 3.6-year-old plants with irrigation and in 3.75-year-old plants under water stress. Organic fertilizer from pig manure favored plant height and diameter and number of leaves. The subspecies *crassispina* had the highest values of the evaluated variables, and *A. salmiana* var. *salmiana* cultivated with chemical fertilization was outstanding for the number of shoots emitted. The highest CO<sub>2</sub> exchange rate occurred between 22:00 and 02:00 h and was higher in plants with abundant soil moisture (irrigated) than in plants with moisture below permanent wilting point. In the latter condition, the plants grown with organic and chemical fertilizer assimilated 60% more CO<sub>2</sub> than the control.

\* Autor para correspondencia ♦ Author for correspondence.

Recibido: julio, 2019. Aprobado: agosto, 2020.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 54: 911-926. 2020.

**Key words:** organic fertilizer, fertilization, CO<sub>2</sub> assimilation, *A. salmiana* subsp. *crassispina*, *A. salmiana* var. *salmiana* and *A. salmiana* var. *ferox*.

**Palabras clave:** abono, fertilización, asimilación de CO<sub>2</sub>, *A. salmiana* subsp. *crassispina*, *A. salmiana* var. *salmiana* y *A. salmiana* var. *ferox*.

## INTRODUCCIÓN

El maguey pulquero (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck) se cultiva desde la época prehispánica, principalmente para la producción de aguamiel, mezcal y fibra (Mora-López *et al.*, 2011). En el altiplano mexicano (Tlaxcala, Hidalgo, Puebla y Estado de México) el pulque es el principal producto de esta planta y es parte fundamental de la gastronomía, participa en la economía y la cultura de los pueblos. Sin embargo, la superficie plantada disminuyó más de 80% entre 1940 y 2012 (Aguilar *et al.*, 2014). Entre las principales causas que desmotivaron a los productores de magueyes estuvo el desprestigio del pulque, el robo del mixiote y pencas, la longevidad del ciclo de las plantas, la comercialización y la falta de tecnología en la industrialización del pulque (José-Jacinto y García-Moya, 2000; Aguilar *et al.*, 2014; Álvarez *et al.*, 2018). A pesar del escenario drástico del descenso en la superficie cultivada de maguey, el consumo de pulque es cada vez más popular (Erlwein *et al.*, 2013). Para impulsar el consumo nacional del pulque y atraer ingresos a los productores de maguey, se organizan ferias anuales en honor al pulque en los estados del altiplano mexicano (Nieto *et al.*, 2016).

La propagación de esta especie es un aspecto polémico, ya que por lo general se emplean hijuelos por la facilidad en su manejo agronómico (Gentry, 1982; Álvarez *et al.*, 2018), aunque esto amenace la diversidad genética en las plantaciones. La reproducción permite la recombinación genética de las plantas (Ramírez-Tobías *et al.*, 2011) les proporciona ventajas adaptativas y, además, el productor puede obtener individuos homogéneos en edad.

La fertilización es fundamental en las plantas cultivadas, porque podría disminuir el ciclo del cultivo requerido para la madurez fisiológica, que en el caso del maguey pulquero se estima en 9 a 20 años (Erlwein *et al.*, 2013; Madrigal *et al.*, 2014). Hasta el momento, la fertilización es poco común en este cultivo. Álvarez *et al.* (2018) mencionan que sólo 38.4% de los productores de Tlaxcala y Puebla abona sus plantas; además, Aguilar *et al.* (2014) refieren que al momento del trasplante se aplican 2-3 kg de abono, por lo general estiércol de ovinos, bovinos, caprinos

## INTRODUCTION

The pulque maguey (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck) is cultivated since pre-Hispanic times, mainly to produce aguamiel, mezcal and fiber (Mora-López *et al.*, 2011). On the Mexican high plateau (Tlaxcala, Hidalgo, Puebla and the state of Mexico), pulque is the main product of this plant and is a major part of the cuisine, the economy and the culture of the people of the region. However, between 1940 and 2012 the cultivated area decreased more than 80% (Aguilar *et al.*, 2014). Among the main causes that have discouraged maguey growers is the low of prestige of pulque, theft of the leaves and mixiote (leaf peel), length of the plant life cycle, commercialization, and the lack of technology for industrializing the pulque (José-Jacinto and García-Moya, 2000; Aguilar *et al.*, 2014; Álvarez *et al.*, 2018). Despite the drastic reduction in the area cultivated with maguey, pulque consumption is increasingly popular (Erlwein *et al.*, 2013). To boost domestic consumption of pulque and to attract income for maguey growers, annual fairs honoring pulque are organized in the states of the Mexican high plateau (Nieto *et al.*, 2016).

Propagation of this species is a polemic issue since shoots, or hijuelos, have generally been used because they facilitate agronomic management (Gentry, 1982; Álvarez *et al.*, 2018), even though it also threatens genetic diversity in the plantations. Reproduction by seed allows plant genetic recombination (Ramírez-Tobías *et al.*, 2011), which provides adaptive advantages, and the grower can also obtain even-aged individuals.

Fertilization is fundamental in cultivated plants because it can decrease the growing cycle required for physiological maturity, which in the case of the pulque maguey is estimated to be 9 to 20 years (Erlwein *et al.*, 2013; Madrigal *et al.*, 2014). To date, fertilizing this crop is not common. Álvarez *et al.* (2018) mention that only 38.4% of the growers in Tlaxcala and Puebla fertilize their plants. Moreover, Aguilar *et al.* (2014) report that 2 to 3 kg of organic fertilizer is applied at transplant, usually sheep, cattle, or goat manure that is incorporated into the soil, and commonly there are no further applications.

Agaves have crassulacean acid metabolism (CAM) that allows them to absorb CO<sub>2</sub> at night. In these plants the formation of C<sub>4</sub> acids is separated in time

que se incorporan a la tierra y es común que no se hagan aplicaciones posteriores.

Los agaves poseen metabolismo ácido de las crasuláceas (MAC) que les permite tomar CO<sub>2</sub> en la noche. En estas plantas la formación de ácidos C<sub>4</sub> está separada en tiempo y espacio. Por la noche, el CO<sub>2</sub> es fijado por la PEP carboxilasa en el citosol y el malato resultante u otro ácido orgánico de cuatro carbonos es transportado a la vacuola. Al día siguiente la luz estimula el metabolismo fotosintético C<sub>3</sub> en los cloroplastos que fijan CO<sub>2</sub> durante el día, pero gran parte de éste proviene de la descarboxilación del malato y otros ácidos almacenados durante la noche anterior y el CO<sub>2</sub> liberado es fijado por el ciclo de Calvin y el NADPH se utiliza para convertir la triosa fosfato en almidón (Nobel, 1998; Taiz y Zeiger, 2010).

Este metabolismo MAC permite a los agaves crecer donde la precipitación es escasa, las temperaturas son extremas o los suelos son someros y con baja fertilidad; el cultivo de esta planta debería retomarse frente al panorama del cambio climático global como una alternativa de producción. Para motivar a los productores a incrementar la superficie cultivada de maguey, la mejora en las labores agrícolas es fundamental. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del abono orgánico y la fertilización química sobre el crecimiento; además, determinar la tasa de intercambio de CO<sub>2</sub> (TIC) en dos condiciones de humedad del suelo de tres variantes de *Agave salmiana* obtenidos por semilla.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las parcelas experimentales se establecieron en San Bartolomé Actopan, municipio de Temascalapa, Estado de México, ubicado en 99° 42' 03" O y 19° 43' 35" N, a una altitud de 2400 m. El clima predominante es Bs<sub>1</sub> kw (w) seco, con precipitación de 500 a 700 mm (INEGI, 2009). Las temperaturas oscilan de 5 a 25 °C, enero es el mes más frío y abril-mayo los meses más calurosos (Weather Spark, 2018). El suelo es franco arcilloso con un pH de 8.1 y 2.7% de materia orgánica. La humedad en el suelo a capacidad de campo fue 28% y a punto de marchitez permanente fue 17%. El contenido nutrimental fue Ca 520 mg kg<sup>-1</sup>, K 35.2 mg kg<sup>-1</sup> y Mg 61.9 mg kg<sup>-1</sup>.

Las tres variantes de *A. salmiana* (subsp. *crassispina*, var. *salmiana* y var. *ferox*) de 18 meses de edad se obtuvieron por semilla y las donó la Protectora de Bosques del Estado de México. Las variantes de *A. salmiana* se establecieron con distribución aleatoria en cada una de las 3 ha en agosto de 2016. La técnica de tras-

and space. During the night, CO<sub>2</sub> is fixed by PEP carboxylase in the cytosol and the resulting malate or other four-carbon organic acid is transported to the vacuole. The following day, light stimulates photosynthetic C<sub>3</sub> metabolism in the chloroplasts that fix CO<sub>2</sub> during the day, but a large part of this comes from the decarboxylation of malate and other acids stored during the previous night. The released CO<sub>2</sub> is fixed by the Calvin cycle, and NADPH is used to convert triose phosphate into starch (Nobel, 1998; Taiz and Zeiger, 2010).

CAM metabolism allows agaves to grow where precipitation is scarce, temperatures are extreme, or soils are shallow and unfertile. In the context of global climate change, cultivation of this plant should be revisited as a production alternative. To motivate growers to increase the area cultivated under maguey, improving agricultural practices is fundamental. Therefore, the objectives of this study were to evaluate the effect of organic and chemical fertilization on growth and to determine the CO<sub>2</sub> exchange rate (CER) in two conditions of soil moisture and three variants of *Agave salmiana* obtained by seed.

## MATERIALS AND METHODS

Experimental plots were established in San Bartolomé Actopan, municipality of Temascalapa, State of Mexico, located at 99° 42' 03" W and 19° 43' 35" N, at an altitude of 2400 m. Predominant climate is Bs<sub>1</sub> kw (w) dry, with precipitation of 500 to 700 mm (INEGI, 2009). Temperatures oscillate between 5 and 25 °C; January is the coldest month, and April and May are the hottest (Weather Spark, 2018). Soil is clay loam with a pH of 8.1 and 2.7% organic matter. Soil moisture at field capacity was 28% and permanent wilting point was 17%. Nutrient content was Ca 520 mg kg<sup>-1</sup>, K 35.2 mg kg<sup>-1</sup> and Mg 61.9 mg kg<sup>-1</sup>.

The three *A. salmiana* variants (subsp. *crassispina*, var. *salmiana* and var. *ferox*), obtained by seed and donated by Protectora de Bosques of the State of Mexico, were 18 months old. They were established under random distribution in each of the 3 ha in August 2016. The plants were transplanted using the common technique to pits spaced 3 m apart in rows 4 m apart, at a density of 750 plants ha<sup>-1</sup>.

In each hectare, one of three nutrient treatments was applied: organic fertilizer, chemical fertilizer and no fertilizer (control). Fertilization was applied in two stages, one at transplant (August 2016) and the other in September 2017. Chemical fertilizer was applied as follows: 100 g triple 17 (17-17-17), 121 g urea (46-00-00) and 182 g Yara Star (21-17-3) to each plant. Organic

plante fue cepa común, con un espaciado de 3 m entre plantas y 4 m entre hileras, a una densidad de 750 plantas ha<sup>-1</sup>.

En cada hectárea se aplicó un tratamiento de nutrición: abono, fertilización y testigo. El abono y la fertilización se efectuaron en dos etapas, una al momento del trasplante (agosto de 2016) y la otra en septiembre de 2017. El tratamiento de fertilización química fue aplicaciones de: 100 g de triple 17 (17-17-17), 121 g de urea (46-00-00) y 182 g de Yara Star (21-17-3) a cada planta; el abono orgánico se aplicó en razón de 3.0 kg de cerdaza por planta, en dos aplicaciones de 1.5 kg. El pH de la cerdaza fue 6.9 y el contenido nutrimental fue: 2.2 g de N, 11.6 g de P y 23.7 g de K por planta.

De enero a septiembre de 2018 se cuantificaron cada mes altura, diámetro de planta (de la espina terminal de una penca a otra, en orientación N-S), longitud de penca (última desplegada), pencas desplegadas, número de pencas vivas e hijuelos. Para medir la tasa de intercambio de CO<sub>2</sub> (TIC), a finales de agosto de 2018 se extrajeron nueve plantas por tratamiento de nutrición (tres plantas de cada variante de *A. salmiana*), se trasplantaron en bolsas de polietileno de 4 kg con suelo circundante a cada planta, se mantuvieron en invernadero durante cinco semanas y se aplicaron tres riegos durante ese tiempo. La caracterización del suelo se realizó en el laboratorio de física de suelos del Colegio de Posgraduados y se determinó la Capacidad de Campo (CC) en 28% y el Punto de Marchitez Permanente en 17%.

Las mediciones a CC se realizaron el 8 y 10 de octubre del 2018 después 48 h de drenaje. Posterior al último riego (6 de octubre de 2018), las plantas se sometieron a estrés hídrico por 7 semanas, se hizo un muestreo del suelo el 25 de noviembre para determinar la humedad del mismo, la cual fue 10%. Las mediciones de la TIC, realizadas el 26 y 27 de noviembre, fueron con ese porcentaje y acorde a la curva de retención de humedad, se encontraba por abajo del PMP. Las mediciones de la TIC se hicieron cada 4 h, durante 20 h en la segunda porción (punta) de la tercera hoja a partir de la última desplegada debido a que por la edad de la hoja (4 a 6 meses) se considera hoja madura con cloroplastos desarrollados y, por lo tanto, fotosíntesis máxima. Para este propósito se usó un equipo portátil para medir fotosíntesis marca LI-COR, modelo 6400XT, con una cámara de 1 cm<sup>2</sup>, la cual incorpora sensores de humedad, transpiración, conductancia, temperatura del aire y de la hoja, radiación fotosintéticamente activa (PAR, siglas en inglés), etc. Con los datos de cada 4 h se calculó el área bajo la curva (Leal, 1999) para definir el porcentaje de asimilación de CO<sub>2</sub> nocturna y diurna.

Los datos se analizaron con el programa SAS® v. 9.0 y el Modelo Lineal Generalizado (MLG); las medias se compararon con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). Para analizar las variables fisiológicas y de crecimiento hubo 9 y 11 repeticiones por tratamiento.

fertilizer was applied at the rate of 3.0 kg pig manure per plant in two applications of 1.5 kg. pH of the manure was 6.9 and nutrient content was 2.2 g N, 11.6 g P and 23.7 g K per plant.

Each month, from January to September 2018, plant height and diameter (from the terminal spike of a north leaf to another of a south leaf), leaf length (of the last unfurled leaf), unfurled leaves, number of live leaves and number of shoots were calculated. To measure CO<sub>2</sub> exchange rate (CER), in late August 2018, nine plants per nutrition treatment were extracted (three plants of each *A. salmiana* variant) and transplanted to 4-kg polyethylene bags containing soil of that surrounding each plant. They were kept in a greenhouse for five weeks during which they were irrigated three times. Characterization of the soil was carried out in the soil physics laboratory of the Colegio de Postgraduados. Field capacity (FC) was determined at 28% and permanent wilting point (PWP) at 17%.

Measurements at FC were performed on October 8 and 10, 2018, after 48 h of drainage. Later, at the last irrigation (October 6, 2018), the plants were subjected to water stress for seven weeks. After this time, on November 25, the soil was sampled to determine moisture, which was 10%. CER measurements, on November 26 and 27, were done with this percentage and, according to the moisture retention curve, it was below PWP. CER measurements were taken every 4 h for 20 h in the second portion (tip) of the third leaf from the last unfurled leaf since, because of its age (4 to 6 months), it was considered to be mature with developed chloroplasts and, therefore, carrying out maximum photosynthesis. Portable equipment LI-COR®, model 6400XT, was used to measure photosynthesis; this equipment included a 1-cm<sup>2</sup> chamber which incorporated sensors of moisture, transpiration, conductance, air temperature and leaf temperature, photosynthetically active radiation (PAR), etc. With the data taken every 4 h, the area under the curve was calculated (Leal, 1999) to define the percentage of nocturnal and diurnal CO<sub>2</sub> assimilation.

The data were analyzed with SAS® v. 9.0 and the Generalized Linear Model (GLM); means were compared with the Tukey test ( $p \leq 0.05$ ). To analyze the physiological and growth variables, there were 9 and 11 replications per treatment.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Growth variables

During the evaluation period (9 months), total precipitation was 722 mm; the driest month was February with 9.0 mm and the wettest month was July with 182.88 mm. The highest temperature was

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Variables de crecimiento

Durante el periodo de evaluación (9 meses), la precipitación total fue 722 mm, el mes más seco fue febrero con 9.0 mm y el más lluvioso fue julio con 182.88 mm. En este periodo, la temperatura máxima fue 25 °C de marzo a mayo y la mínima 6 °C en enero (Weather Spark, 2018).

Las variables de crecimiento, excepto pencas desplegadas, tuvieron efectos por la fertilización, variantes de *A. salmiana* y mes de medición. La interacción tratamiento\* variante de *A. salmiana* fue estadísticamente significativa en las variables: diámetro de la planta, longitud de penca y número de pencas; la interacción tratamiento\*mes fue significativa en altura, diámetro de planta, longitud de pencas y número de pencas; la interacción variante de *A. salmiana*\*mes no fue significativa (Cuadro 1), por lo que las variantes respondieron de manera similar durante el tiempo de evaluación.

Las plantas de *A. salmiana* con aplicación de abono orgánico destacaron en las variables altura, diámetro y número de pencas. Las plantas que crecieron con fertilización química obtuvieron los valores más altos en altura, longitud de penca y porcentaje de

25 °C from March to May, and the lowest was 6 °C in January (Weather Spark, 2018).

The growth variables, except for unfurled leaves, were affected by fertilization, *A. salmiana* variant and month of measurement. The interaction treatment\**A. salmiana* variant was statistically significant in the variables plant diameter, leaf length and number of leaves. The interaction treatment\*month was significant in height, plant diameter, leaf length and number of leaves. The interaction *A. salmiana* variant\*month was not significant (Table 1): the variants responded in a similar way during the entire evaluation period.

*Agave salmiana* plants with organic fertilization were outstanding in the variables: height, diameter and number of leaves. The plants that grew with chemical fertilizer reached the highest values in height, leaf length and percentage of plants with shoots. The control plants had higher values in number of leaves, like the plants that received organic fertilizer. There were no statistical differences in number of unfurled leaves among the treatments.

The analysis of *A. salmiana* variants by nutrition treatment shows that the highest values of the evaluated variables were observed in the subsp. *crassispina* and var. *salmiana* cultivated with organic or chemical fertilizer.

**Cuadro 1. Análisis de varianza del efecto de los tratamientos de nutrición, variantes de *Agave salmiana*, mes de muestreo y sus interacciones sobre variables de crecimiento.**

**Table 1. Analysis of variance of the effect of the nutrition treatments, *Agave salmiana* variants, sampling month and their interactions on growth variables.**

FV	GL	h	D	Lp	Np	Pd <sup>ns</sup>	pch (%)
Tratamiento (T)	2	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.55	0.0001
Variante (Vr)	2	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.43	0.22
Mes (M)	8	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
T*Vr	4	0.0127	0.0001	0.0002	0.0001	0.97	0.60
T*M	16	0.0001	0.0001	0.0001	0.0002	0.41	0.0001
Vr*M <sup>ns</sup>	16	0.25	0.07	0.06	0.81	0.91	0.20
T*Vr*M	32	0.68	0.71	0.06	0.06	0.99	0.59
Error	890						
CV		9.67	8.84	11.85	14.74	15.34	11.59
r <sup>2</sup>		0.87	0.79	0.78	0.39	0.28	0.23

FV: fuente de variación; GL: todas las variables y sus interacciones fueron significativas ( $p \leq 0.05$ ); excepto ns: no significativo; h: altura; D: diámetro de planta; Lp: longitud de penca; Np: número de pencas vivas; Pd: pencas desplegadas; pch: porcentaje de plantas con hijuelos. ♦ FV: source of variation; GL: all the variables and their interactions were significant ( $p \leq 0.05$ ), except ns: not significant; h: height; D: plant diameter; Lp: leaf length; Np: number of live leaves; Pd: unfurled leaves; pch: percentage of plants with shoots.

plantas con hijuelos. Las plantas testigo destacaron sólo en número de pencas al igual que las plantas que recibieron abono. No hubo diferencias estadísticas en el número de pencas desplegadas entre tratamientos. El análisis por variantes de *A. salmiana* por tratamiento de nutrición muestra que en la subsp. *crassispina* y var. *salmiana* cultivadas con abono o con fertilización se observaron los valores más altos en las variables evaluadas (Cuadro 2).

El 81.8% de las plantas de la var. *salmiana* que recibieron fertilización emitieron de uno a cinco hijuelos a los 2 años de establecimiento en campo; las variantes subsp. *crassispina* y var. *ferox* también tuvieron un porcentaje alto de emisión de hijuelos (72%). El número de hijuelos por planta podría rebasar lo reportado por Silos-Espino *et al.* (2011) de que una planta puede producir entre ocho a 10 hijuelos en su vida. Le siguen las plantas abonadas con un promedio de 48%, lo cual indica que una nutrición adecuada permite a la planta emitir rizomas de los que emergen los hijuelos. En cambio, en las plantas testigo la emisión de hijuelos fue baja (9%) por la deficiencia de N, P, K. Sánchez *et al.* (2013) mencionan que la deficiencia de N reduce el crecimiento de las raíces.

La mayor tasa de despliegue de pencas se presentó en los meses más lluviosos (agosto y septiembre) con precipitación de 172 y 144 mm, respectivamente.

Of the var. *salmiana* plants that received chemical fertilizer, 81.8% emitted one to five shoots after two years of establishment in the field. The variants subsp. *crassispina* and var. *ferox* had a high percentage (72%) of shoot emission. The number of shoots per plant could surpass that reported by Silos-Espino *et al.* (2011), that one plant can produce between eight and ten shoots during its lifetime. Plants that received organic fertilizer followed, with an average of 48%, indicating that adequate nutrition allows the plant to emit rhizomes from which shoots emerge. In contrast, emission of shoots of the control plants was low (9%) due to N, P, and K deficiencies. Sánchez *et al.* (2013) mention that N deficiency reduces root growth.

The high rate of leaf unfurling occurred in the rainiest months (August and September) with 172 and 144 mm of rainfall, respectively. This observation agrees with that observed by Nobel (2011), who reported a higher rate of unfurling during the rainy season for *A. deserti* and *A. fourcroydes*. Over nine months, one plant unfurled an average of four leaves, coinciding with that reported by Nobel (2011) and García-Moya *et al.* (2011) for *A. salmiana* with five leaves per year. Therefore, when availability of water for these plants is substantial, it eliminates the limitation of CO<sub>2</sub> absorption and, thus, of growth.

**Cuadro 2. Efecto del tratamiento de nutrición sobre las variables de crecimiento en las tres variantes de *Agave salmiana*.**

**Table 2. Effect of the nutrition treatment on growth variables of the three *Agave salmiana* variants.**

Tratamiento	Variantes de <i>A. salmiana</i>	h (cm)	D (cm)	Lp (cm)	Np	Pd	pch (%)
Abono orgánico	subsp. <i>crassispina</i>	28.7 a	37.5 a	29.6 a	8.3 bc	3.9 a	54.5 b
	var. <i>salmiana</i>	27.9 a	35.1 b	29.4 a	9.0 a	4.1 a	54.5 b
	var. <i>ferox</i>	25.5 b	34.3 bc	26.0 c	7.9 cd	3.7 a	36.4 c
Fertilización química	subsp. <i>crassispina</i>	28.7 a	34.0 bc	30.8 a	8.3 bc	4.1 a	72.7ab
	var. <i>salmiana</i>	28.0 a	33.7 c	29.4 a	7.4 de	3.7 a	81.8 a
	var. <i>ferox</i>	26.3 b	33.1 c	27.3 b	7.1 e	3.6 a	72.7ab
Testigo	subsp. <i>crassispina</i>	19.0 c	26.6 d	20.2 d	8.4 bc	3.7 a	0.0 d
	var. <i>salmiana</i>	17.9 d	26.3 d	19.7de	8.6 ab	3.6 a	9.1 d
	var. <i>ferox</i>	17.0 d	25.9 d	18.8 e	8.6 ab	3.3 a	9.1 d
DHS		1.07	1.19	1.29	0.53	0.08	18

h: altura, D: diámetro de planta, Lp: longitud de penca, Np: número de pencas, Pd: pencas desplegadas de enero a septiembre, pch: porcentaje de plantas con hijuelos; DHS: diferencia honesta significativa. Los valores reportados son el promedio de nueve mediciones mensuales, excepto Pd que correspondió al promedio al final del periodo. Letra distintas en una columna indican diferencia estadística (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). ♦ h: height; D: plant diameter; Lp: leaf length; Np: number of leaves; Pd: unfurled leaves from January to September; pch: percentage of plants with shoots; DHS: honest significant difference. The values reported are the averages of nine monthly measurements, except for Pd, which was the average at the end of the period. Different letters in a column indicate statistical difference (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

Esta observación concuerda con lo observado por Nobel (2011) de una mayor tasa de despliegue en la temporada de lluvias para *A. deserti* y *A. fourcroydes*. En el transcurso de 9 meses, una planta desplegó en promedio cuatro pencas, lo cual concuerda con lo reportado por Nobel *et al.* (1992) y García-Moya *et al.* (2011) para *A. salmiana*, con cinco pencas desplegadas al año. Por lo tanto, la disponibilidad de agua para estas plantas es sustancial porque elimina la limitación de la absorción de CO<sub>2</sub> y por ende, del crecimiento.

La mayoría de las variables evaluadas fueron favorecidas por la cerdaza, por sus componentes lábiles o de fácil mineralización: N, P y K<sub>2</sub>O, lo que permitió la liberación del nitrógeno aprovechable en las primeras semanas (Figuroa-Barrera *et al.*, 2012), ya que pese a su bajo contenido nutrimental, la planta aprovechó los nutrientes.

### Tasas de intercambio de CO<sub>2</sub>

#### Tasa de intercambio de CO<sub>2</sub> en condiciones de riego

Las mediciones de la tasa de intercambio de CO<sub>2</sub> (TIC) se realizaron con humedad del suelo a capacidad de campo. El clima se caracterizó como días con nublado parcial, con presencia de precipitación. La humedad relativa en el periodo diurno osciló de 28 a 70% y nocturno de 53 a 95%. La temperatura del aire dentro del invernadero varió de 18 a 40 °C, con la mínima a las 06:00 h y la máxima a las 14:00 h. La radiación fotosintéticamente activa (PAR) promedio durante el día: a las 10:00 h, 344 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>; a las 14:00 h, 285 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>; y a las 18:00 h, 1.6 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

El análisis de varianza mostró que fue significativo (p ≤ 0.05) el efecto de los tratamientos de nutrición, variantes de *A. salmiana* y la interacción tratamiento\* variante de *A. salmiana*, durante el período nocturno (18:00, 22:00 y 02:00 h), y en el período diurno (10:00 y 14:00 h) sólo hubo significancia en el tratamiento (Cuadro 3).

La TIC tuvo dos picos máximos dentro del ciclo circadiano, a las 22:00 h y entre las 10:00 y las 14:00 h. En los intervalos nocturnos (22:00, 02:00 y 06:00 h), la máxima TIC fue a las 22:00 h; sobresalen las plantas que crecieron con fertilización química y testigo con 24.7 y 24.1 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, respectivamente. A las

Most of the variables evaluated were favored by the pig manure because of its labile, or easily mineralized, components: N, P, and K<sub>2</sub>O, permitting release of available nitrogen during the first weeks (Figuroa-Barrera *et al.*, 2012). Thus, despite the low nutrient content of the manure, the plants were able to use the nutrients.

### CO<sub>2</sub> exchange rates

#### CO<sub>2</sub> exchange rate in conditions of irrigation

CO<sub>2</sub> exchange rates (CER) were measured with soil moisture at field capacity. Weather was partly cloudy with precipitation. Relative humidity during the day oscillated from 28 to 79% and at night it was 53 to 95%. Air temperature in the greenhouse changed from 18 to 40 °C, with the low temperature at 06:00 h and the high at 14:00 h. Average photosynthetically active radiation (PAR) during the day was: at 10:00 h, 344 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>; at 14:00 h, 285 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>; and at 18:00 h, 1.6 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

The analysis of variance showed that the effect of the nutrition treatments, *A. salmiana* variants, and the interaction treatment\**A. salmiana* variant was significant (p ≤ 0.05) during the nocturnal period (18:00, 22:00 and 02:00 h) and in the diurnal period (10:00 and 14:00 h) only treatment was significant (Table 3).

CER had two maximum peaks in the circadian cycle, at 22:00 h and between 10:00 and 14:00 h. In the nocturnal intervals (22:00, 02:00 and 06:00 h), the highest CER occurred at 22:00 h, and the plants that grew with chemical fertilization and the control were outstanding with 24.7 and 24.1 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, respectively. At 06:00 h, the lowest values occurred. And in the diurnal intervals (10:00 and 14:00 h), the control with the highest CO<sub>2</sub> exchange rates (20.2 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) at 14:00 h, followed by plants that grew with chemical fertilization, with a maximum CER of 13.1 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> at 10:00 h.

The *A. salmiana* plants in conditions of field capacity assimilated CO<sub>2</sub> mainly during the night, but also significantly during the day. By integrating the area under the curve by treatment, we found that of the total CO<sub>2</sub> assimilated over 20 h (Figure 1), diurnal assimilation was 23, 37 and 45% for plants with organic fertilizer, chemical fertilization and the control, respectively. Therefore, soil moisture was the

**Cuadro 3. Análisis de varianza del efecto de los tratamientos de nutrición, variantes de *Agave salmiana* y su interacción sobre las horas evaluadas, con humedad en el suelo a CC.**

**Table 3. Analysis of variance of the effect of the nutrition treatments, *Agave salmiana* variants and their interaction on the hours evaluated with soil moisture at field capacity.**

FV	GL	18:00	22:00	02:00	06:00 <sup>ns</sup>	10:00	14:00
Tratamiento (T)	2	0.0001	0.0171	0.0063	0.11	0.0001	0.0001
Variante (Vr)	2	0.0001	0.0307	0.0138	0.46	0.0352	0.15
T*Vr	4	0.0305	0.0013	0.0016	0.48	0.18	0.35
Error	26						
CV		14.35	9.52	14.12	24.04	25.19	38.18
r <sup>2</sup>		0.88	0.72	0.74	0.36	0.84	0.79

FV: fuente de variación; GL: significativo ( $p \leq 0.05$ ); excepto ns: no significativo. ♦ FV: source of variation; GL: significant ( $p \leq 0.05$ ); except ns: not significant.

06:00 h se presentaron los valores más bajos. Y en los intervalos diurnos (10:00 y 14:00 h), el testigo con las tasas de intercambio de CO<sub>2</sub> más elevadas (20.2  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) a las 14:00 h, seguido de las plantas que crecieron con fertilización química, con una TIC máxima de 13.1  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  a las 10:00 h.

Las plantas de *A. salmiana* en condiciones de capacidad de campo asimilaron CO<sub>2</sub> principalmente durante la noche, pero también de manera significativa durante el día. Al integrar el área bajo la curva por tratamiento se encontró que del total de CO<sub>2</sub> asimilado durante 20 h (Figura 1), la asimilación diurna fue 23, 37 y 45% para plantas con abono orgánico, fertilización química y testigo, respectivamente. Por lo tanto, la humedad del suelo fue el factor determinante en la apertura estomática independiente de la fertilización en las variantes de *A. salmiana* evaluadas. La fase III del ciclo MAC que se presenta en las horas de mayor iluminación, 10:00 a 14:00 h, cuando la resistencia estomática es alta en condiciones de poca a nula humedad en el suelo, no se manifestó debido a que este elemento no fue un factor limitativo, por lo que parte del CO<sub>2</sub> requerido por la planta se fijó en el periodo de luz.

Las variantes crecidas con abono orgánico, tuvieron el pico máximo de la TIC a las 22:00 h, la var. *salmiana*, la var. *ferox* y subsp. *crassispina* obtuvieron en promedio 23.7, 21.5 y 19.4  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente. Las plantas que crecieron con fertilización química tuvieron el pico máximo de la TIC a las 22:00 h; la subsp. *crassispina*, var. *ferox* y la var. *salmiana* obtuvieron 28.9, 25.4 y 19.8  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,

determining factor in stomatic opening regardless of fertilization to the *A. salmiana* variants evaluated. Phase III of the CAM cycle, which occurs during the hours of highest illumination 10:00 to 14:00 h, where stomatic resistance is high in conditions of little to no moisture in the soil, was not manifested because water was not a limiting factor. Therefore, part of the CO<sub>2</sub> required by the plant was fixed during the period of light.

The variants grown with organic fertilizer had a maximum CER peak at 22:00 h; var. *salmiana*, var. *ferox* and subsp. *crassispina* had on average 23.7, 21.5 and 19.4  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectively. Plants grown with chemical fertilizer had maximum CER peaks at 22:00 h; subsp. *crassispina*, var. *ferox* and var. *salmiana* reached 28.9, 25.4 and 19.8  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectively. At 06:00 h there was a decrease, with values of 6 to 10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  and a spike at 10:00 h; var. *ferox* with 15.6 and subsp. *crassispina* with 13.1  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  were outstanding. The control plants also reached maximum CER at 22:00 h, subsp. *crassispina* with 26.2  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , and the varieties *ferox* and *salmiana* with 24.3 and 21.9  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . During the day, there was a major spike between 10:00 and 14:00 h, with values of 19.5 to 20.8  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

The three *A. salmiana* variants reached an average maximum CER of 23.5  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , similar to the results of Nobel *et al.* (1992) with *A. salmiana* and *A. mapisaga* in field conditions, with maximum peaks of CO<sub>2</sub> capture at 20:00 h with 29 and 34  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . In another study with 4-year-old *A. angustifolia*, the peak occurred between 20:00 and 02:00 h, with

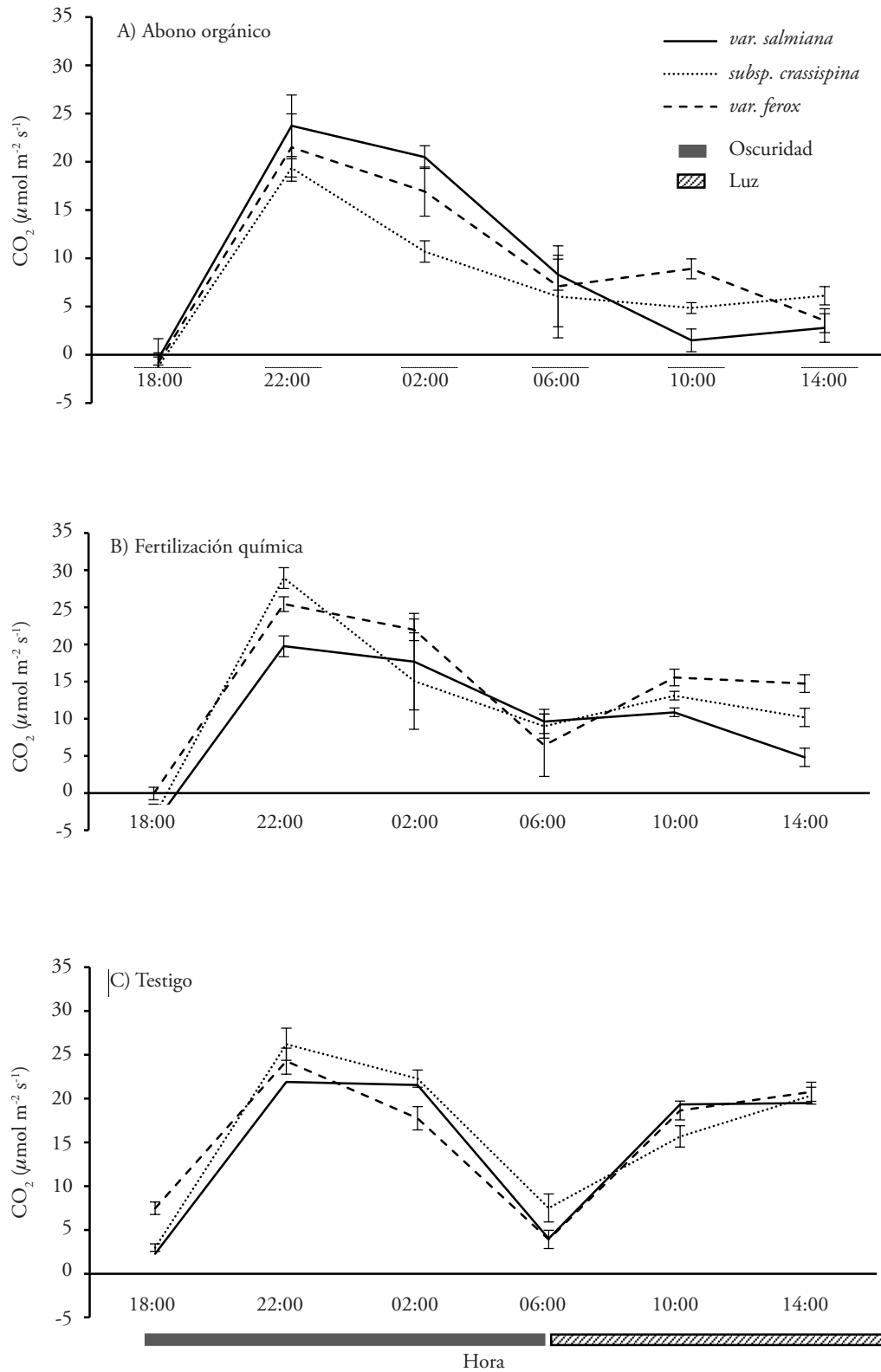


Figura 1. Tasa de intercambio de CO<sub>2</sub> (TIC) en tres variantes de *Agave salmiana* con humedad en el suelo a capacidad de campo. Las barras verticales indican el error estándar, n=3.

Figure 1. CO<sub>2</sub> exchange rate (CER) in three *Agave salmiana* variants with soil moisture at field capacity. Vertical bars indicate standard error, n=3.

respectivamente. A las 06:00 h hubo un descenso con valores de 6 a  $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y un repunte a las 10:00 h, y sobresalen la var. *ferox* con 15.6 y la subsp. *crassispina* con  $13.1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Las plantas testigo, también alcanzaron la TIC máxima a las 22:00 h; la subsp. *crassispina* con  $26.2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , y las variedades *ferox* y *salmiana*, 24.3 y  $21.9 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . En el periodo diurno hubo un repunte importante entre las 10:00 y las 14:00 h, con valores de 19.5 a  $20.8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Las tres variantes de *A. salmiana* alcanzaron una TIC máxima promedio de  $23.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , lo cual es semejante al estudio de Nobel *et al.* (1992) en *A. salmiana* y *A. mapisaga* en condiciones de campo, con picos máximos de captura de  $\text{CO}_2$  a las 20:00 h con 29 y  $34 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . En otro estudio en *A. angustifolia* de cuatro años de edad, el pico se presentó entre 20:00 y 02:00 h con una tasa máxima de  $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (José-Jacinto y García-Moya, 1995) y *A. tequilana* las tasas máximas reportadas fueron de 8 a  $19 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en el periodo nocturno durante el año (Nobel, 1998; Pimienta-Barrios *et al.*, 2006).

La TIC diurna fue algo inesperado del metabolismo MAC típico, en específico para las plantas fertilizadas y testigo en las cuales la TIC diurna fue 37 % y 45%, respectivamente. Sin embargo, en *A. tequilana* en condiciones de campo, con asimilación diurna y nocturna de  $\text{CO}_2$ , más del 80% ocurrió en la noche (Pimienta-Barrios *et al.*, 2005). La asimilación nocturna en *A. angustifolia* bajo condiciones de riego, contribuyó 70-85 % del total diario (Winter *et al.*, 2014). Además, en plantas jóvenes de *A. salmiana* con limitaciones de humedad se presenta plasticidad fotosintética (Ramírez *et al.*, 2013).

Los factores ambientales más relacionados con la TIC son la temperatura y la humedad relativa (Pimienta-Barrios *et al.*, 2006). Hartsock y Nobel (1976) informaron que cuando la humedad del suelo no fue un factor limitante en *A. deserti*, la apertura de estomas se registró durante el día y 97% del  $\text{CO}_2$  requerido por la planta se fijó en el periodo de luz. Por lo tanto, es posible que las condiciones favorables de invernadero con alta humedad relativa diurna (28 a 70%) y nocturna (53-95%), temperaturas del aire mínima y máxima de 18 y 40 °C, favorecieron la asimilación neta de  $\text{CO}_2$  durante el día y la noche. La TIC diurna, además de optimizar la ganancia de carbono, también podría ser un mecanismo de enfriamiento de la planta a través de la transpiración,

a maximum rate of  $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (José-Jacinto and García-Moya, 1995), and with *A. tequilana* the maximum rates reported were 8 to  $19 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  in the nocturnal period during the year (Nobel, 1998; Pimienta-Barrios *et al.*, 2006).

Diurnal CER differed somewhat unexpectedly from typical CAM metabolism, specifically for the fertilized plants and the control where diurnal CER was 37% and 45%, respectively. However, in *A. tequilana* in field conditions, with diurnal and nocturnal  $\text{CO}_2$  assimilation, more than 80% occurred at night (Pimienta-Barrios *et al.*, 2005). Nocturnal assimilation in *A. angustifolia* under conditions of irrigation contributed 70-85% of the daily total (Winter *et al.*, 2014). Moreover, in young *A. salmiana* plants with limited moisture, photosynthetic plasticity occurs (Ramírez *et al.*, 2013).

The environmental factors most related to CER are temperature and relative humidity (Pimienta-Barrios *et al.*, 2006). Hartsock and Nobel (1976) reported that when soil moisture was not a limiting factor in *A. deserti*, stoma aperture was registered during the day, and 97% of the  $\text{CO}_2$  required by the plant was fixed during the period with light. Therefore, it is possible that the favorable conditions in the greenhouse, with high diurnal (28 to 70%) and nocturnal (53-95%) relative humidity and minimum and maximum air temperatures of 18 and 40 °C, favored net  $\text{CO}_2$  assimilation during the day and night. Diurnal CER, besides optimizing carbon gain, could also be a cooling mechanism for the plant through transpiration when there is sufficient water available in the soil and in the leaves (Lujan *et al.*, 2009). The control plants, which grew with nutritional limitations, took advantage of the seasonal rainfall to maximize  $\text{CO}_2$  assimilation because plants synthesize their metabolic and structural compounds with determined chemical elements that are found in their surroundings. Carbon is obtained from the  $\text{CO}_2$  in the air, which is incorporated into the organic matter through the process of photosynthesis (Alcántar *et al.*, 2013). However, it is not clear why plants provided with organic and chemical fertilizers had lower diurnal CER than the control plants under these conditions of moisture.

The  $\text{CO}_2$  captured during the night is stored in the vacuole and is released during the day to enter the chloroplasts where it is fixed by RuBisCO by means

mientras haya suficiente agua disponible en el suelo o dentro de las pencas (Lujan *et al.*, 2009). En las plantas testigo, que crecieron con limitaciones nutricionales, se aprovechó la humedad temporal para la máxima asimilación de CO<sub>2</sub>, porque las plantas sintetizan sus compuestos metabólicos y estructurales con determinados elementos químicos que se encuentran en el medio que las rodea. El carbono proviene del CO<sub>2</sub> de aire, el cual se incorpora en la materia orgánica a través del proceso de fotosíntesis (Alcántar *et al.* 2013). Sin embargo, no está claro porqué las plantas abonadas y fertilizadas presentaron menor TIC diurna que el testigo bajo estas condiciones de humedad.

El CO<sub>2</sub> capturado durante la noche se almacena en la vacuola y se libera durante el día para entrar en los cloroplastos en los que se fija por RuBisCO mediante el ciclo de Calvin-Benson-Bassham (Borland *et al.*, 2009). Sin embargo, la incorporación del CO<sub>2</sub> capturado en el día, pudo ingresar de manera directa al ciclo de Calvin como ocurre con las plantas C<sub>3</sub>.

### Tasa de intercambio de CO<sub>2</sub> en condiciones de baja humedad en el suelo

Las evaluaciones se realizaron en plantas de *A. salmiana* en una baja humedad del suelo (menor al PMP). Esos días presentaron nublados parciales, humedad relativa diurna entre 35 a 82% y nocturna entre 54 a 95%. La temperatura del aire osciló en la noche de 12 a 18 °C y en el día de 16 a 35 °C. La radiación fotosintéticamente activa (PAR) promedio durante el día: a las 10:00 h, 0.17 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>; a las 14:00 h, 310 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>; y a las 18:00 h, 105.9 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

El análisis de varianza mostró que fue significativo (p≤0.05) el efecto de los tratamientos de nutrición en el periodo nocturno (18:00, 22:00 y 02:00 h) y en el diurno, a las 10:00 h. El efecto de variantes de *A. salmiana* y la interacción tratamiento\* variante de *A. salmiana* durante el periodo nocturno sólo fue significativo (p≤0.05) a las 18:00 h, y en el período diurno el efecto del tratamiento fue significativo a las 10:00 h (Cuadro 4).

La mayor TIC fue a las 02:00 h, sin diferencia entre plantas que recibieron abono y fertilización con 13.8 y 13.1 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, pero sí hubo diferencia con plantas testigo (8.7 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). A las 22:00 h la mayor TIC fue en plantas que recibieron abono con 12.3 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Durante el periodo diurno (10:00

of the Calvin-Benson-Bassham cycle (Borland *et al.*, 2009). However, the incorporation of CO<sub>2</sub> captured during the day could enter directly into the Calvin cycle as occurs with C<sub>3</sub> plants.

### CO<sub>2</sub> exchange rate in conditions of low soil moisture

*Agave salmiana* plants grown with low soil moisture (lower than PWP) were evaluated. During evaluations, the days were partly cloudy with diurnal relative humidity between 35 and 82% and nocturnal RH between 54 and 95%. Air temperature oscillated from 12 to 18 °C at night and 16 to 35 °C during the day. Average photosynthetically active radiation (PAR) during the day was: at 10:00 h, 0.17 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>; at 14:00 h, 310 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>; and at 18:00 h, 105.9 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

The analysis of variance showed that the effect of the nutrition treatments was significant (p≤0.05) in the nocturnal period (18:00, 22:00 and 02:00 h) and in the diurnal period, at 10:00 h. The effect of *A. salmiana* variants and the interaction treatment\**A. salmiana* variant during the nocturnal period was significant (p≤0.05) only at 18:00 h, and in the diurnal period the effect of treatment was significant at 10:00 h (Table 4).

The highest CER occurred at 02:00 h, with no difference between plants that received organic fertilizer and those that received chemical fertilizer with 13.8 and 13.1 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, but there were differences with control plants (8.7 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). At 22:00 h, the highest CER occurred in plants that received organic fertilizer with 12.3 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. During the day (10:00 to 18:00 h), CER values were negative, -0.4 to -5.5 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, contrasting with the nocturnal period.

The plants cultivated with organic fertilizer had a maximum CER peak between 22:00 h and 02:00 h. The var. *salmiana*, var. *ferox* and subsp. *crassispina* had averages of 15.04, 12.6 and 12.2 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. In contrast, the variants cultivated with chemical fertilizer had maximum CER at 02:00 h. The subsp. *crassispina* and the varieties *salmiana* and *ferox* reached values of 16.7, 13.5 and 11.3 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, respectively. The control plants had a maximum CER at 02:00 h: the subsp. *crassispina* and var. *salmiana* with 9.0 and 8.8 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> and var. *ferox* with 8.2 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Unlike the plants fertilized with

**Cuadro 4. Análisis de varianza del efecto de los tratamientos de nutrición, variantes de *Agave salmiana* y su interacción sobre las horas evaluadas, con humedad en el suelo por debajo del PMP.**

**Table 4. Analysis of variance of the effect of the nutrition treatments, *Agave salmiana* variants and their interaction at the evaluated hours with soil moisture below permanent wilting point.**

	FV	GL	18:00	22:00	02:00	06:00 <sup>ns</sup>	10:00	14:00 <sup>ns</sup>
Tratamiento (T)	2		0.0080	0.0002	0.0073	0.75	0.0046	0.41
Variante (Vr)	2		0.0217	0.0705	0.57	0.13	0.14	0.11
T*Vr	4		0.0452	0.0670	0.48	0.11	0.26	0.41
Error		26						
CV			8.24	10.91	11.89	20.67	21.85	-8.38
r <sup>2</sup>			0.65	0.71	0.49	0.43	0.57	0.37

FV: fuente de variación; GL: significativo  $p \leq 0.05$ ; excepto *ns*: no significativo. ♦ FV: source of variation; GL: significant  $p \leq 0.05$ ; except *ns*: not significant.

a 18:00 h) todos los valores de TIC fueron negativos, con valores de  $-0.4$  a  $-5.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , en contraste con el periodo nocturno.

Las plantas cultivadas con abono orgánico tuvieron el pico máximo de TIC entre 22:00 y 02:00 h. La var. *salmiana*, la var. *ferox* y subsp. *crassispina* obtuvieron en promedio 15.04, 12.6 y  $12.2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . En contraste, las variantes cultivadas con fertilización tuvieron la máxima TIC a las 02:00 h. La subsp. *crassispina*, las variedades *salmiana* y *ferox* obtuvieron valores de 16.7, 13.5 y  $11.3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente. Las plantas testigo presentaron un máximo de TIC a las 02:00 h; la subsp. *crassispina* y var. *salmiana* con 9.0 y  $8.8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y la var. *ferox* de  $8.2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . A diferencia de las plantas abonadas y fertilizadas, en las plantas testigo la TIC a las 06:00 h tuvo una ligera disminución ( $\approx 23\%$ ) en comparación con la de 02:00 h.

Los valores obtenidos en la TIC máxima posterior a una restricción en la humedad del suelo durante 7 semanas causó tasas menores, comparadas a las presentadas en la primera medición con humedad del suelo, lo cual concuerda con lo observado por Nobel (1985) para *A. fourcroydes* y por Winter *et al.* (2014) para *A. angustifolia* después de 11 d para la primera especie y dos semanas para la segunda especie, del cese de la irrigación. El estrés por sequía se manifestó como una disminución continua en la tasa de intercambio de  $\text{CO}_2$ . La respuesta inmediata de la planta por la falta del agua en el suelo fue la captación de  $\text{CO}_2$  solo durante la noche, típico de plantas MAC,

organic and chemical fertilizer, the CER of control plants at 06:00 h had a slight decrease ( $\approx 23\%$ ) relative to that at 02:00 h.

The maximum CER values obtained after a restriction of soil moisture for seven weeks caused lower rates, compared with those of the first measurement with soil moisture, coinciding with that observed by Nobel (1985) in *A. fourcroydes* and by Winter *et al.* (2014) in *A. angustifolia*, 11 d for the former species and two weeks for the latter species after irrigation ceased. Drought stress was manifested as a continuous decrease in the  $\text{CO}_2$  exchange rate. The immediate response of the plant to lack of water in the soil was  $\text{CO}_2$  capture only during the night, typical of CAM plants, which open stomata during the hours of darkness to minimize loss of water through transpiration, as reported by Casierra and González (2009) and Nobel (2011).

The average maximum  $\text{CO}_2$  exchange rate in plants cultivated with organic fertilizer was  $13.1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  and, with chemical fertilizer, it was  $13.8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figure 2), while the control plants had on average  $8.7 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ( $\approx 40\%$  less). These results suggest that organic and chemical fertilization is important for productivity of *A. salmiana* variants in conditions of drought. Nobel *et al.* (1988) found that nitrogen and phosphorus applied separately to *A. lechuguilla* cultivated in the field increased the net  $\text{CO}_2$  exchange rate, while fertilization with potassium and boron generated differences in nocturnal assimilation of  $\text{CO}_2$ .

en las cuales la apertura de estomas en las horas de oscuridad minimiza la pérdida de agua por transpiración, como lo reportaron Casierra y González (2009) y Nobel (2011).

El promedio de la tasa de intercambio de CO<sub>2</sub> máxima en plantas cultivadas con abono orgánico fue 13.1  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y con fertilización química 13.8  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figura 2), mientras que las plantas testigo tuvieron en promedio 8.7  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ( $\approx$  40% menos). Estos resultados sugieren que el abono y la fertilización son importantes en la productividad de las variantes de *A. salmiana* en condiciones de sequía. Nobel *et al.* (1988) encontraron que la aplicación de nitrógeno y fósforo, por separado, en *A. lechuguilla* cultivada en campo, aumentó la tasa neta de intercambio de CO<sub>2</sub>; la fertilización con potasio y con boro generó diferencias en asimilación nocturna de CO<sub>2</sub>.

Las plantas fertilizadas no mostraron síntomas de estrés cuando la humedad del suelo fue inferior al PMP, mientras que en plantas C3 y C4, una vez que se alcanza el PMP (-1.5 MPa), sólo algunas plantas pueden recuperarse (Nobel, 2005), lo cual también está relacionado con la succulencia foliar y el espesor de la cutícula, lo que refuerza la importancia de este suministro interno de agua para garantizar un alto rendimiento fotosintético durante todo el año (Pimienta-Barrios *et al.*, 2001).

El MAC demuestra una eficiencia alta de uso del agua y permite que estas plantas colonicen ambientes precarios por falta de humedad, altas temperaturas y suelos pobres en nutrientes. Las cactáceas logran incluso valores de productividad elevados en estos lugares (Matiz *et al.*, 2013; Winter *et al.*, 2014), lo cual es importante considerar ante el panorama del cambio climático mundial que advierte la intensificación de la aridez, con la posible desertificación en el mundo (Matiz *et al.*, 2013), y donde los agaves tienen una función importante por su resistencia a las condiciones extremas de temperatura y su productividad alta en condiciones de escasez de agua.

## CONCLUSIONES

El abonado orgánico o fertilización química mejoró el crecimiento de la planta de maguey pulquero, por lo cual el uso del abono orgánico es una alternativa ecológica que favoreció el crecimiento de las tres variantes de *A. salmiana* estudiadas. El crecimiento

The fertilized plants did not show symptoms of stress when soil moisture was below PWP, while only some C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants, once PWP is reached (-1.5 MPa), can recover (Nobel, 2005). This is also related to leaf succulence and cuticle thickness, reinforcing the importance of this internal water supply to guarantee high photosynthetic yield during the entire year (Pimienta-Barrios *et al.*, 2001).

CAM is highly efficient in water use and allows these plants to colonize environments that are precarious because of the lack of moisture, high temperatures and nutrient-poor soils. Cactaceae can achieve high productivity in these places (Matiz *et al.*, 2013; Winter *et al.*, 2014). This is important to consider in the face of world climate change that forewarns intensification of aridity, with possible desertification worldwide (Matiz *et al.*, 2013). Agaves have an important function because of their resistance to extreme temperature conditions and their high productivity in conditions of water scarcity.

## CONCLUSIONS

Both organic and chemical fertilization improved growth of the pulque maguey. Thus, the use of organic fertilizer is an ecological alternative that can favor growth of the three *A. salmiana* variants studied. Growth of the subspecies *crassispina* cultivated with organic fertilizer was favored, and the var. *salmiana* cultivated with chemical fertilizer had a high percentage of shoot emission.

Soil moisture was the most limiting factor in *A. salmiana* variants for CO<sub>2</sub> exchange rates because at field capacity photosynthetic metabolism was modified and assimilation occurred during both nocturnal and diurnal periods. In contrast, *A. salmiana* in conditions of soil moisture below permanent wilting point assimilated CO<sub>2</sub> only during the night. Plants that received organic or chemical fertilizer assimilated 60% more than the control, indicating that nutrition is fundamental for plant growth in conditions of drought.

—End of the English version—

-----\*-----

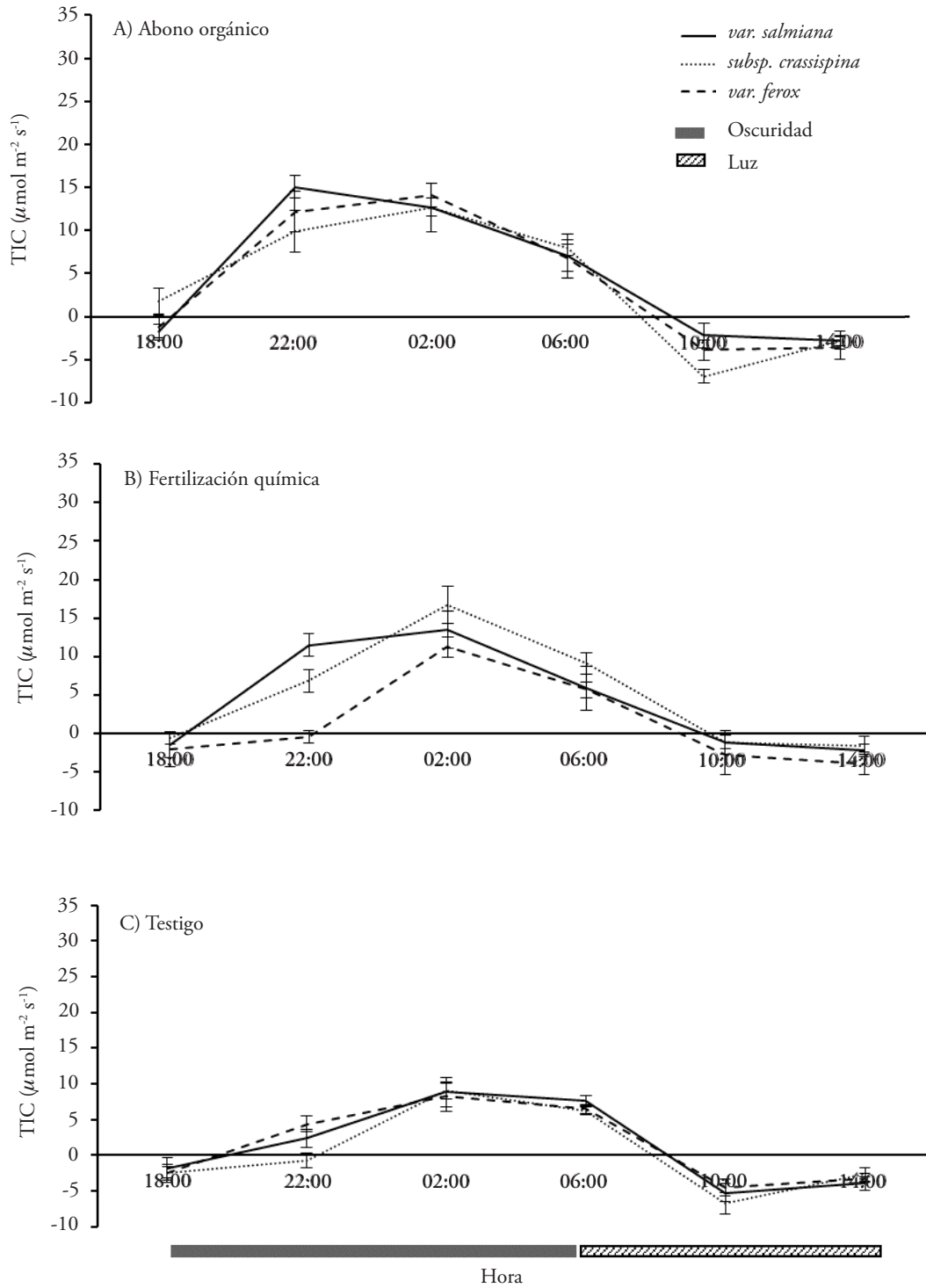


Figura 2. Tasa de intercambio de CO<sub>2</sub> en tres variantes de *A. salmiana* con humedad en el suelo por debajo de PMP. Las barras verticales indican el error estándar, n=3.

Figure 2. CO<sub>2</sub> exchange rate in three *A. salmiana* variants with soil moisture below PWP. Vertical bars indicate standard error, n=3 error.

de la subespecie *crassispina* cultivada con abono orgánico se favoreció y la var. *salmiana* cultivada con fertilización química tuvo un porcentaje alto de emisión de hijuelos.

El agua en el suelo fue el factor más limitativo en variantes de *A. salmiana* para la tasas de intercambio de CO<sub>2</sub>, porque a capacidad de campo modificó el metabolismo fotosintético y causó asimilación durante el periodo nocturno y diurno. En cambio, las variantes de *A. salmiana* en condiciones de humedad menores al PMP sólo realizaron asimilación de CO<sub>2</sub> durante la noche; y las plantas abonadas o fertilizadas tuvieron 60% más de asimilación que el testigo, lo cual indica que la nutrición es fundamental para el crecimiento de las plantas en condiciones de sequía.

### LITERATURA CITADA

- Aguilar J. B., J. R. Enríquez del Valle, G. Rodríguez-Ortiz, D. Granados S., y B. Martínez C. 2014. El estado actual de *Agave salmiana* y *A. mapisaga* del Valle de México. *Rev. Mex. Agroecosistemas* 1: 106-120.
- Alcántar, G. G., L. Trejo-Téllez, P. Fernández L., y M. N. Rodríguez M. 2013. Cap. 2 Elementos esenciales. *In: Nutrición de cultivos*. Alcántar, G. G., y L. Trejo-Téllez (eds). Colegio de Posgraduados. pp: 8-47.
- Álvarez, D., M. C., E. García-Moya, J. Suárez-Espinosa, M. Luna-Cavazos, y M. Rodríguez-Acosta. 2018. Conocimiento tradicional, cultivo y aprovechamiento del maguey pulquero en los municipios de Puebla y Tlaxcala, México. *Polibotánica* 45: 205-222.
- Borland A., M. Griffiths, H. Hartwell, J., and J. A. C. Smith. 2009. Exploiting the potential of plants with crassulacean acid metabolism for bioenergy production on marginal lands. *J. Exp. Bot.* 60: 2879-2896.
- Casierra P, F., y M. González D. 2009. Cambio circadiano de pH y acidez titulable en la savia de fique (*Furcraea castilla* y *F. macrophylla*). *Rev. Orinoquia* 13: 5-13.
- Erlwein, S., R. J. Mira T., y A. Velasco P. 2013. Proceso de elaboración del pulque, su importancia económica y concepción social en Apan, Hidalgo. *In: Ramos R., J. L. (ed). Ejercicios Etnográficos, Aprendiendo a Investigar*. Ciudad de México, México. ENAH-INAH. pp: 59-103.
- Figueroa B., A., J. G. Álvarez H., A. F. Forero, C. Salamanca, y L. P. Pinzón. 2012. Determinación del nitrógeno potencialmente mineralizable y la tasa de mineralización de nitrógeno en materiales orgánicos. *Rev. Temas Agrarios* 17: 32 - 43.
- García-Moya, E., A. Romero-Manzanares, and P. S. Nobel. 2011. Highlights for Agave productivity. *CGB Bioenergy* 3: 4-14.
- Gentry, H. S. 1982. *Agaves of Continental North America*. The University of Arizona Press. Tucson, Arizona. 670 p.
- Hartsock, L. T., and P. S. Nobel. 1976. Watering converts a CAM plant to daytime CO<sub>2</sub> uptake. *Nature*. 262: 574-576.
- INEGI. 2009. *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos*, Temascalapa, México. Clave Geoestadística 15084.
- José-Jacinto, R., y E. García-Moya, E. 1995. Fijación de CO<sub>2</sub> en *Agave angustifolia* Haw. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 57: 5-10.
- José-Jacinto, R. y García-Moya, E. 2000. Remoción cuticular ("Mixiote") y desarrollo foliar en los Agaves Pulqueros (*Agave salmiana* y *A. mapisaga*). *Bol. Soc. Bot. Méx.* 66: 73-79.
- Leal L., V. M. Estudio fisiológico y anatómico de la proliferación en maíz (*Zea mays* L.). 1999. Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados. pp: 26-51.
- Lujan R., F. Lledías, L. Martínez, R. Barreto, G. Cassab, and J. Nieto S. 2009. Small heat-shock proteins and leaf cooling capacity account for the unusual heat tolerance of the central spike leaves in *Agave tequilana* var. Weber. *Plant, Cell & Environ.* 32: 1791-1803.
- Madrigal L., R., A. Velázquez L., E. García-Moya, O. Sánchez-Lozada, and X. Ramírez-González, 2014. El maguey, cultivo y cultura en la región centro del país; primera etapa. México. Fideicomiso de Desarrollo Regional Centro País. pp: 1-24.
- Matiz, A., P. Tamaso, A. Yepes, L. Freschi, and H. Mercier. 2013. Chapter 4. CAM Photosynthesis in Bromelias and Agaves: What Can We Learn from These Plants? *In: Photosynthesis*. Dubinski Z (ed). London, United Kingdom. pp: 91-134.
- Mora-López, J. L., J. Reyes-Agüero A., J. Flores-Flores L., C. B. Peña-Valdivia, y J. Aguirre-Rivera R. 2011. Variación morfológica y humanización de la sección Salmianae del género *Agave*. *Agrociencia* 45: 465-477.
- Nieto, A., R. J. Vargas M., J. C. Nieto A., A. Rodríguez O., V. M. Jiménez P., J. Hernández C., M. Ortiz B. 2016. El cultivo de maguey pulquero (*Agave salmiana*) en el valle del mezquital. Universidad Politécnica de Francisco I. Madero, Hidalgo. 52 p.
- Nobel, P. S. 1985. PAR, water, and temperature limitations on the productivity of cultivated *Agave fourcroydes* (henequen). *J. Appl. Ecol.* 22: 157-173.
- Nobel, P. S. 1989. A nutrient index quantifying productivity of agaves and cacti. *J. Appl. Ecol.* 26: 635-645.
- Nobel, P. S. 1998. *Los Incomparables Agaves y Cactus*. Editorial Trillas. México. 211 p.
- Nobel, P. S. 2005. *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*. Third Edition. Elsevier Academic Press. San Diego, USA. 571 p.
- Nobel, P. S. 2011. *Sabiduría del Desierto, Agaves y Cactus: CO<sub>2</sub>, Agua, Cambio Climático*. García M., E. 2ed. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. 160 p.
- Nobel, P. S., E. Quero, and H. Linares. 1988. Differential growth responses of agaves to nitrogen, phosphorus, potassium, and boron applications. *J. Plant Nutr.* 11:1683-1700.
- Nobel, P. S., E. García-Moya, and E. Quero. 1992. High annual productivity of certain agaves and cacti under cultivation. *Plant Cell Environ* 15: 329-335.
- Pimienta-Barrios, E., C. Robles M., and P. S. Nobel. 2001. Net, CO<sub>2</sub> uptake for *Agave tequilana* in a warm and temperate environment. *Biotropica* 33: 312-318.
- Pimienta-Barrios, E., J. Zañudo H., P. S. Nobel, y J. García G. 2005. Respuesta fisiológica a factores ambientales del agave azul (*Agave tequilana* Weber). *Scientia-CUCBA* 7: 85-97.
- Pimienta-Barrios, E., J. Zañudo H., y J. García G. 2006. Fotosíntesis estacional en plantas jóvenes de *Agave tequilana*. *AGRO* 40: 699-709.

- Ramírez-Tobías, H. M., C. B. Peña-Valdivia, J. R. Aguirre R., J. A. Reyes-Agüero, A. B. Sánchez-Urdaneta, and S. Valle-Guadarrama, 2011. Seed germination temperatures of eight Mexican Agave species with economic importance. *Plant Species Biol.* 27:124-137.
- Ramírez-Tobías, H. M., C. B. Peña-Valdivia, y R. Aguirre J. 2014. Respuestas bioquímico-fisiológicas de especies de Agave a la restricción de humedad. *Bot. Sci.* 92: 131-139.
- Sánchez, G. P., C. Molinos da S., G. Alcántar G., y M. Sandoval V. 2013. Cap. 6 Diagnóstico nutrimental en plantas. *In: Nutrición de cultivos.* Alcántar, G. G. y L. Trejo-Téllez (eds). Colegio de Posgraduados. pp: 202-247.
- Silos-Espino, H., C. L. Tovar-Robles, N. González-Cortés, S. J. Méndez-Gallegos, y D. Rossel-Kipping. 2011. Estudio integral del maguey (*Agave salmiana*): propagación y valor nutricional. *Rev. Salud Pública y Nutrición* 5: 75-82.
- Taiz, L., and E. Zeiger. 2010. Chapter 8: Photosynthesis. *In: Plant Physiology.* 5th ed. underland: Sinauer Associates Inc., Publishers. pp: 200-235.
- Weather Spark.* 2018. El clima promedio en Temascalapa, México. Fecha de consulta 20/09/2018. <https://es.weatherspark.com/y/6604/Clima-promedio-en-Temascalapa-M%C3%A9xico-durante-todo-el-a%C3%B1o#Sections-Precipitation>
- Winter, K., M. Garcia, and A. M Holtum J. 2014. Nocturnal versus diurnal CO<sub>2</sub> uptake: how flexible is *Agave angustifolia*? *J. Exp. Bot.* 65: 3695–3703.