

---

# RELACIÓN ENTRE LA CAPACIDAD FOTOSINTÉTICA Y EL CONTENIDO DE ACEITES ESENCIALES DE *Lippia graveolens* (VERBENACEAE) EN DOS LOCALIDADES CON DIFERENCIAS EN PRECIPITACIÓN ANUAL

---

Wilmer Tezara, Ilsa Coronel, Gabriel Dzib y Luz María Calvo-Irabien

## RESUMEN

*Lippia graveolens* (Verbenaceae) es conocida por el alto valor comercial de sus aceites esenciales (AE) pero se conoce muy poco acerca de su respuesta fotosintética a variables ambientales. Con la finalidad de conocer la posible relación entre capacidad fotosintética, estado hídrico y producción de AE, se midió el potencial hídrico ( $\Psi$ ), la respuesta de la fotosíntesis ( $A$ ) a la concentración intercelular de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) y a la densidad de flujo fotónico (DFF), la actividad fotoquímica y el contenido de AE de individuos que crecen naturalmente en dos localidades de la península de Yucatán, México: Maxcanú (subhúmedo) y Coloradas (subárido). Las plantas con mayor contenido de AE fueron las del sitio subhúmedo, con mayor  $\Psi$  y mayor capacidad fotosintética (alta EC,  $q_p$ ,  $A$  y  $g_s$ ) que las del semiá-

rido. La limitación estomática relativa ( $L_s$ ) fue 24% en ambas poblaciones, mientras que la limitación metabólica ( $L_m$ ) de  $A$  fue 41% mayor en las plantas del sitio subárido. Se concluyó que existe relación entre capacidad fotosintética y contenido de AE de *L. graveolens* y que la reducción de  $A$  en la población estresada se debió tanto al cierre estomático como a factores metabólicos ( $A$  a  $\text{CO}_2$ , saturante y actividad fotoquímica:  $\Phi_{\text{PSII}}$ ,  $q_p$ ) que imponen una limitación a la ganancia de carbono, manteniendo constante la relación  $C_i/C_a$  y sin evidencias de fotoinhibición crónica. El valor económico de *L. graveolens* merece más estudios en poblaciones silvestres que crecen bajo un gradiente natural de disponibilidad hídrica.

## Introducción

La baja disponibilidad de agua o déficit hídrico (DH) es el principal factor ambiental que limita la fotosíntesis, el crecimiento y la productividad en los ecosistemas terrestres (Wullschlegler *et al.*, 2002), incluso en plantas adaptadas a condiciones áridas (Schulze *et al.*, 1987). El DH causa una reducción en la conductancia estomática ( $g_s$ ) que puede limitar la tasa de fotosíntesis ( $A$ ) debido a su efecto directo sobre la disponibilidad de  $\text{CO}_2$  en los cloroplastos, producto de una menor difusión de  $\text{CO}_2$  a través de los estomas (Cornic, 2000) o a la disminución de algunos procesos metabólicos tales como: actividad RuBisco, eficiencia de carboxila-

ción (EC), contenido de RuBP y de ATP, actividad fotoquímica y transporte de electrones del fotosistema II (PSII) (Lawlor y Cornic, 2002; Tezara *et al.*, 2003, 2005, 2008; Lawlor y Tezara, 2009).

Especies de xerófitas (*Medicago truncatula*, *Ipomoea carnea*, *Jatropha gossypifolia*, *Lycium nodosum*, *Calotropis procera* y *C. gigantea*) sometidas a déficit hídrico muestran una reducción significativa en el potencial hídrico foliar ( $\Psi$ ),  $A$ ,  $g_s$  y en la actividad fotoquímica del fotosistema II (PSII) en comparación con los valores observados en el periodo lluvioso (Tezara *et al.*, 2003, 2005, 2011; Nunes *et al.*, 2008).

En plantas aromáticas, la biosíntesis de aceites esencia-

les (AE) está fuertemente ligada al suministro de energía y carbono provenientes del proceso fotosintético (Sangwan *et al.*, 2001). Los AE se definen como una mezcla compleja de compuestos derivados del isopreno, especialmente, monoterpenos y sesquiterpenos provenientes de diferentes órganos de las plantas. Hipotéticamente, se espera que cualquier factor que afecte la  $A$ , como el DH, también ejerza su efecto sobre la síntesis y concentración de AE. Sin embargo, son escasos los estudios en donde se hayan evaluado los efectos del DH sobre el contenido de AE. Algunos estudios realizados bajo condiciones controladas han mostrado resultados contradictorios: el efecto podía

ser negativo, positivo o nulo, dependiendo de la especie (Hay, 1993; Sangwan *et al.*, 1993, 1994, 2001; Shabin *et al.*, 1999; Dunford y Silva Vázquez, 2005; Silva-Vázquez y Dunford, 2005).

Evidencias experimentales demuestran que el DH incrementó el rendimiento de los AE en diferentes especies tales como el perejil (*Petroselinum crispum*), la menta (*Mentha spicata*) y el romero (*Rosmarinus officinalis*) (Delfine *et al.*, 2005; Petropoulos *et al.*, 2008). Por el contrario, el DH causó una reducción en la producción de AE y en los parámetros de crecimiento en plantas de melisa (*Melissa officinalis*; Farahani *et al.*, 2009). En malojillo (*Cymbopogon nar-*

---

**PALABRAS CLAVE / Aceites Esenciales / Fotosíntesis / Limitación Estomática / *Lippia graveolens* / Orégano Mexicano /**

Recibido: 06/03/2013. Modificado: 07/10/2013. Aceptado: 09/10/2013.

**Wilmer Tezara.** Licenciado en Biología y Doctor en Ciencias, Universidad Central de Venezuela. (UCV). Profesor, UCV, Venezuela. Dirección: Laboratorio de Ecofisiología de Xerófitas, Instituto de Biología Experimental (IBE-UCV). Apartado

47829, Caracas 1041A, Venezuela. e-mail: wilmer.tezara@ciens.ucv.ve

**Ilsa Coronel.** Licenciado en Biología, UCV, Venezuela. Profesora, UCV, Venezuela. e-mail: illsa.coronel@gmail.com

**Gabriel Dzib.** Contador. Técnico Asociado, Centro de Investigaciones Científicas de Yucatán (CICY), México. e-mail: gabrid@cicy.mx

**Luz María Calvo Irabien.** Doctor en Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Investigador, CICY, México. e-mail: lumali@cicy.mx

## RELATIONSHIP BETWEEN PHOTOSYNTHETIC CAPACITY AND ESSENTIAL OILS CONTENT OF *Lippia graveolens* (VERBENACEAE) IN TWO LOCATIONS WITH DIFFERENCES IN ANNUAL RAINFALL

Wilmer Tezara, Ilsa Coronel, Gabriel Dzib and Luz María Calvo-Irabien

### SUMMARY

*Lippia graveolens* (Verbenaceae) is known for the high commercial value of its essential oils (EO), but the photosynthetic response of the plant to environmental variables has been little studied. In order to know the possible relationship between photosynthetic capacity and water status with essential oil content, we measured the water potential ( $\Psi$ ), the photosynthesis response ( $A$ ) to intercellular  $CO_2$  concentration ( $C_i$ ) and photon flux density (DFF), photochemical activity and EO content of plants from two localities of the Yucatan Peninsula, Mexico: Maxcanú (sub-humid) and Coloradas (sub-arid). Plants with higher EO content were from the sub-humid site with higher  $\Psi$  and photosynthetic capacity (high EC,  $q_p$ ,  $A$  and  $g_s$ ) than

those from the semi-arid site. The relative stomatal limitation ( $L_s$ ) was 24% in both populations, while the metabolic limitation ( $L_m$ ) of  $A$  was 41% greater in plants from the semi-arid site. It was concluded that there is a relationship between the photosynthetic capacity and EO content of *L. graveolens* and that the lower  $A$  in the stressed population was due to both stomatal closure and metabolic factors ( $A$  at saturating  $CO_2$  and photochemical activity:  $\Phi_{PSII}$ ,  $q_p$ ) which impose a limitation on carbon gain, keeping constant the ratio  $C_i/C_a$  and without evidence of chronic photo-inhibition. The economic value of *L. graveolens* deserves further studies on wild populations growing under a natural gradient of water availability.

## RELAÇÃO ENTRE A CAPACIDADE FOTOSINTÉTICA E O CONTEÚDO DE AZEITES ESSENCIAIS DE *Lippia graveolens* (VERBENACEAE) EM DUAS LOCALIDADES COM DIFERENÇAS EM PRECIPITAÇÃO ANUAL

Wilmer Tezara, Ilsa Coronel, Gabriel Dzib e Luz María Calvo-Irabien

### RESUMO

*Lippia graveolens* (Verbenaceae) é conhecida pelo alto valor comercial de seus azeites essenciais (AE), mas se conhece muito pouco sobre sua resposta fotossintética a variáveis ambientais. Com a finalidade de conhecer a possível relação entre capacidade fotossintética, estado hídrico e produção de AE, se mediu o potencial hídrico ( $\Psi$ ), a resposta da fotossíntese ( $A$ ) à concentração intercelular de  $CO_2$  ( $C_i$ ) e à densidade de fluxo fotônico (DFF), a atividade fotoquímica e o conteúdo de AE de indivíduos que crescem naturalmente em duas localidades da península de Yucatán, México: Maxcanú (subúmido) e Coloradas (semiárido). As plantas com maior conteúdo de AE foram as do sítio subúmido, com maior  $\Psi$  e maior capacidade fotossintética (alta EC,  $q_p$ ,  $A$  e  $g_s$ ) que as do semiárido. A limita-

ção estomática relativa ( $L_s$ ) foi 24% em ambas as populações, enquanto que a limitação metabólica ( $L_m$ ) de  $A$  foi 41% maior nas plantas do sítio semiárido. Concluiu-se que existe relação entre capacidade fotossintética e conteúdo de AE de *L. graveolens* e que a redução de  $A$  na população estressada foi devido tanto ao fechamento estomático como a fatores metabólicos ( $A$  a  $CO_2$  saturante e atividade fotoquímica:  $\Phi_{PSII}$ ,  $q_p$ ) que impõem uma limitação ao ganho de carbono, mantendo constante a relação  $C_i/C_a$  e sem evidências de foto inibição crônica. O valor econômico de *L. graveolens* merece mais estudos em populações silvestres que crescem sob um gradiente natural de disponibilidade hídrica.

*us* y *C. pendulus*), el crecimiento de las plantas se redujo considerablemente mientras que la cantidad de AE se mantuvo constante o aumentó dependiendo de la especie (Sangwan *et al.*, 1994).

Una de las especies promisorias de mayor importancia en zonas secas es *Lippia graveolens* (HBK) (Verbenaceae), conocida como orégano mexicano. Es un arbusto caducifolio o árbol pequeño entre 1 y 3m de altura (Tucker y DeBaggio, 2009) y se encuentra principalmente en sitios abiertos con vegetación secundaria derivada de matorral costero o bosque caducifolio (Soto *et al.*, 2007). Se encuentran poblaciones de orégano mexicano que crecen

de manera espontánea en ecosistemas áridos y semiáridos del sudoeste de EEUU, México y América Central hasta el sur de Nicaragua (Soto *et al.*, 2007) y su cultivo es de gran importancia por su alto contenido de aceites esenciales (Calvo-Irabien *et al.*, 2009). En Yucatán, la cosecha manual de hojas del orégano mexicano de las poblaciones silvestres es una práctica tradicional que representa una importante fuente de ingresos para los hogares rurales, especialmente para las mujeres (Calvo-Irabien *et al.*, 2009).

Los trabajos realizados en orégano mexicano principalmente se enfocan en la composición y actividad biológica (propiedades antibióticas

y antioxidantes) de sus AE por su importancia agronómica, farmacéutica, alimenticia, cosmética y perfumería (Hernández *et al.*, 2003; Salgueiro *et al.*, 2003; Portillo-Ruiz *et al.*, 2005; Rocha-Guzmán *et al.*, 2007; Martínez-Rocha *et al.*, 2008). Aunque se ha reportado una considerable variabilidad en la composición química de los AE de *L. graveolens*, los componentes principales son: carvacrol, timol,  $p$ -cimeno,  $\gamma$ -terpineno, cineol 1-8,  $\beta$ -cariofileno y  $\alpha$ -humuleno (Terblanche y Kornelius, 1996; Calvo-Irabien *et al.*, 2009).

En el presente estudio se indagó si la mayor capacidad fotosintética y eficiencia del uso del agua (EUA) están

relacionados y generan diferencias en el rendimiento de aceites esenciales entre poblaciones de *Lippia graveolens*. Se estudió además si esas diferencias en la ganancia de carbono están relacionadas con mayor limitación metabólica y/o fotoquímica de la fotosíntesis.

### Materiales y Métodos

#### Sitio de estudio y material vegetal

El estado de Yucatán, México, se caracteriza por un gradiente bioclimático, con una mayor aridez en el noroeste del estado y características edáficas heterogéneas (Orellana *et al.*, 1999; Bautista *et al.*, 2011).

TABLA I  
LOCALIZACIÓN, TIPOS DE CLIMA Y DE VEGETACIÓN Y CARACTERÍSTICAS  
EDÁFICAS, DONDE SE ESTUDIARON LAS DOS POBLACIONES DEL QUIMIOTIPO  
TIMOL DE *Lippia graveolens*

	Maxcanú	Coloradas
Coordenadas geográficas	20,58°N 90,00°O	21,56°N 88,08°O
Tipo de clima	Subhúmedo	Semiárido
Tipo de vegetación	Bosque caducifolio	Matorral costero
Precipitación promedio anual (mm)	1099	664
Temperatura promedio anual (°C)	26,6	25,4
Relación evapotranspiración/precipitación	1,3	2,7
pH del suelo	7,5	7,8
Contenido de P del suelo (mg·kg <sup>-1</sup> )	3,9	4,9
Contenido de N del suelo (mg·g <sup>-1</sup> )	6,7	13,2

En julio 2009 se estudiaron dos poblaciones naturales del quimiotipo timol de orégano mexicano (Tabla I): una ubicada en un bosque caducifolio con clima subhúmedo (Maxcanú) y la otra en un matorral costero con clima semiárido (Coloradas). El clima en las dos localidades está caracterizado por alta radiación y altas temperaturas. Aunque en el sitio subhúmedo la precipitación anual fue casi el doble que en el semiárido durante el periodo lluvioso (1100 y 600mm, respectivamente), la evaporación normalmente excede a la precipitación, por lo que en ambos sitios la disponibilidad hídrica debe limitar el crecimiento de las plantas. En los dos sitios la temperatura media anual del aire ( $T_a$ ), el pH de los suelos y el contenido de P fue similar, pero el contenido de N del suelo en Coloradas (semiárido) fue mayor (Tabla I).

#### Parámetros microclimáticos

Se midió la densidad de flujo fotónico (DFF) con dos sensores cuánticos mod. 190-S conectados a un radiómetro LI-185 (LI-COR Inc.; Lincoln, NE, EE.UU.). La temperatura del aire ( $T_a$ ,  $n=3$ ) y de la hoja ( $T_f$ ,  $n=5$ ) se midieron con termistores YSI 405 y 409 B, respectivamente, conectados a un teletermómetro (Yellow Springs, OH, EEUU) y la humedad relativa con dos higrometros (Abbeon modelo AB167B; Santa Barbara, CA, EEUU).

#### Parámetros fisiológicos

Todas las mediciones fisiológicas que se describen a continuación fueron realizadas en hojas adultas completamente expandidas de diferentes individuos de cada una de las poblaciones en condiciones naturales.

**Relaciones hídricas.** El potencial hídrico foliar ( $\Psi$ ) se midió a las 06:00 en ramas de cinco individuos de cada población ( $n=5$ ) con una bomba de presión (PMS, Corvallis, OR, EE.UU.).

**Intercambio de gases.** En cada población se midió el intercambio gaseoso: fotosíntesis (A), transpiración, conductancia estomática ( $g_s$ ), concentración intercelular de  $CO_2$  ( $C_i$ ) y eficiencia de uso de agua instantánea ( $EUA=A/E$ ) de hojas intactas con un analizador infrarrojo de gases portátil mod. CIRAS 2 (PP Systems, Hitchin, RU) unido a una cámara de asimilación PLC(B). Las medidas fueron realizadas a una concentración de  $CO_2$  ambiental ( $C_a$ ) de  $370\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ , salvo que se indique lo contrario, una  $DFF=1200\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  y una  $T_f=28\pm 0,5^\circ\text{C}$ . El intercambio gaseoso instantáneo se midió en cinco individuos de cada población ( $n=5$ ) entre 08:30 y 10:00, cuando A fue máxima.

**Contenido de aceites esenciales (AE).** Hojas (5g) de tres individuos ( $n=3$ ) de cada una de las poblaciones

de *L. graveolens* fueron secadas en el horno y luego se sometieron a destilación por arrastre de vapor por 1h con un aparato de Clevenger modificado (Calvo-Irabien *et al.*, 2009). El aceite extraído se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El contenido de AE se calculó sobre base de peso seco (% g/g).

**Fotosíntesis vs concentración intercelular de  $CO_2$  ( $A/C_i$ ).** Las curvas  $A/C_i$  de cada población ( $n=4$ ) se realizaron a una  $DFF$  de  $1200\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  y 21%  $O_2$ , con un analizador CIRAS 2, incrementando progresivamente la concentración de  $CO_2$  ambiental ( $C_a$ ) desde 0 hasta  $1400\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ . A cada  $C_a$  se esperó a que A se estabilizara antes de registrar el valor. Se calculó la limitación estomática relativa ( $L_s$ ) de la A según Farquhar y Sharkey (1982) y la limitación metabólica ( $L_m$ ) según Jacob y Lawlor (1991). Las curvas  $A/C_i$  se ajustaron con una ecuación empírica  $A=b+d\times e^{K\times C_i}$ . La pendiente de la porción lineal de la curva ( $K\times d$ ) representa la eficiencia de carboxilación (EC).

**Fotosíntesis vs densidad de flujo fotónico ( $A/DFF$ ).** Se realizaron curvas de A en función de DFF ( $A/DFF$ ) en hojas de 4 individuos ( $n=4$ ) con un analizador CIRAS 2, variando la DFF desde 0 hasta  $1500\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  en ocho pasos sucesivos. Se esperó que A se estabilizara antes de registrar cada valor. Las mediciones se realizaron

a  $370\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$   $CO_2$  y 21%  $O_2$ . Las curvas  $A/DFF$  se ajustaron con una ecuación empírica  $A=b+d\times e^{K\times DFF}$ , donde b representa la capacidad fotosintética máxima, (b+d) la tasa de respiración y el producto  $K\times d$ , representa la pendiente de la porción lineal (eficiencia cuántica aparente,  $\Phi_{CO_2}$ ).

**Fotosíntesis vs temperatura foliar ( $T_f$ ).** Se realizaron curvas de temperatura (A vs  $T_f$ ;  $n=4$ ) entre las 09:00 y 11:00 con un analizador CIRAS 2, variando la temperatura de la cámara de 25 a  $45^\circ\text{C}$  con un sistema de control microclimático (PP Systems, Hitchin, RU). Para cada  $T_f$  obtenida se esperó a que A se estabilizara antes de registrar el valor. Las curvas de respuesta de A vs  $T_f$  se realizaron a  $370\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$   $CO_2$ , 21%  $O_2$  y  $DFF=1200\pm 20\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

**Fluorescencia de la clorofila a.** La fluorescencia de la clorofila a se midió en hojas intactas adaptadas a la oscuridad de cinco individuos de cada población ( $n=5$ ) con un fluorímetro PAM 2010 (Walz, Effeltrich, Alemania) utilizando el protocolo descrito por Genty *et al.* (1989).

La máxima eficiencia cuántica ( $F_v/F_m$ ) fue medida *in situ* a la mínima DFF al amanecer. La eficiencia cuántica del PSII ( $\Phi_{PSII}$ ) se calculó como  $\Phi_{PSII}=(F'_m-F_s)/F'_m$ , donde  $F_s$  y  $F'_m$  son fluorescencia estable y máxima en hojas iluminadas, respectivamente. Los coeficientes de extinción fotoquímico ( $q_p$ ) y no fotoquímico ( $q_n$ ) se calcularon a partir de las mediciones de fluorescencia. La tasa de transporte de electrones de PSII se estimó por el método de Krall y Edwards (1992) como  $J=\Phi_{PSII}\times DFF\times \text{absortividad foliar}\times 0,5$ .

#### Análisis estadístico

Los resultados son presentados como la media  $\pm$  error estándar. Se utilizó el paquete estadístico Statistica 5.5 para

TABLA II  
DATOS MICROCLIMÁTICOS DE AMBAS LOCALIDADES Y SU VARIACIÓN A LO LARGO PERÍODO DE LAS MEDICIONES \*

Hora	DFF ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )		HR (%)		$T_a$ ( $^{\circ}\text{C}$ )		$T_f$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	
	Maxcanú	Coloradas	Maxcanú	Coloradas	Maxcanú	Coloradas	Maxcanú	Coloradas
7:00	72 (1)	79 (2)	98 (0,3)	95 (0,3)	24,5 (0,3)	25,5 (0,3)	23,8 (0,2)	25,6 (0,3)
8:00	404 (1)	795 (23)	95 (0,3)	80 (0,5)	25,6 (0,3)	30,3 (0,4)	28,5 (1,4)	31,9 (0,8)
9:00	1022 (1)	1100 (25)	86 (0,3)	62 (1,0)	28,2 (0,6)	31,6 (0,3)	30,9 (0,7)	34,5 (0,7)
10:00	1526 (12)	1550 (25)	71 (0,5)	63 (0,5)	30,8 (0,4)	33,6 (0,3)	31,7 (0,6)	36,5 (0,4)
11:00	2327 (64)	1971 (15)	65 (0,5)	58 (0,5)	31,5 (0,3)	34,9 (0,1)	33,3 (0,4)	36,4 (0,3)
12:00	2185 (42)	2098 (10)	49 (1,0)	58 (0,3)	37,7 (0,3)	36,8 (0,2)	36,3 (0,1)	37,4 (0,6)

\* Las medidas se realizaron dos días consecutivos en cada localidad. Cada valor representa la media (ES), n= 2 (DFF), n= 2 (HR); n= 3 ( $T_a$ ); n=5 ( $T_f$ ).

realizar el análisis de varianza de una y dos vías (ANOVA, con un nivel de significancia de  $p < 0,05$ ) y pruebas de diferencia de medias (Tukey). Se realizó un análisis de correlación de Spearman entre el contenido de AE y variables de intercambio gaseoso ( $A$ ,  $g_s$ ,  $EUA$ ,  $EC$ ,  $A_{CO_2\text{sat}}$  y  $A_{DFF\text{sat}}$ ). Las gráficas y ajustes se realizaron utilizando el programa Sigmaplot 10.0.

## Resultados

### Condiciones microclimáticas

No se observaron diferencias en los parámetros microclimáticos entre ambas localidades (Tabla II). Entre las 07:00 y 12:00, la DFF varió desde 79 hasta  $2300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , la  $T_a$  de  $24,5 \pm 0,3$  a  $37,7 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$  y la humedad relativa de  $98 \pm 0,3$  a  $49 \pm 1\%$ . La  $T_f$  de *L. graveolens* mostró un máximo de  $37,4 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ , observándose las mayores  $T_f$  en Coloradas. El déficit de presión de vapor hojaire ( $\Delta w$ ) osciló entre 0,5 y  $1,6 \text{ kPa}$ .

### Estado hídrico e intercambio gaseoso

Se encontraron diferencias significativas en  $\Psi$  matutino en am-

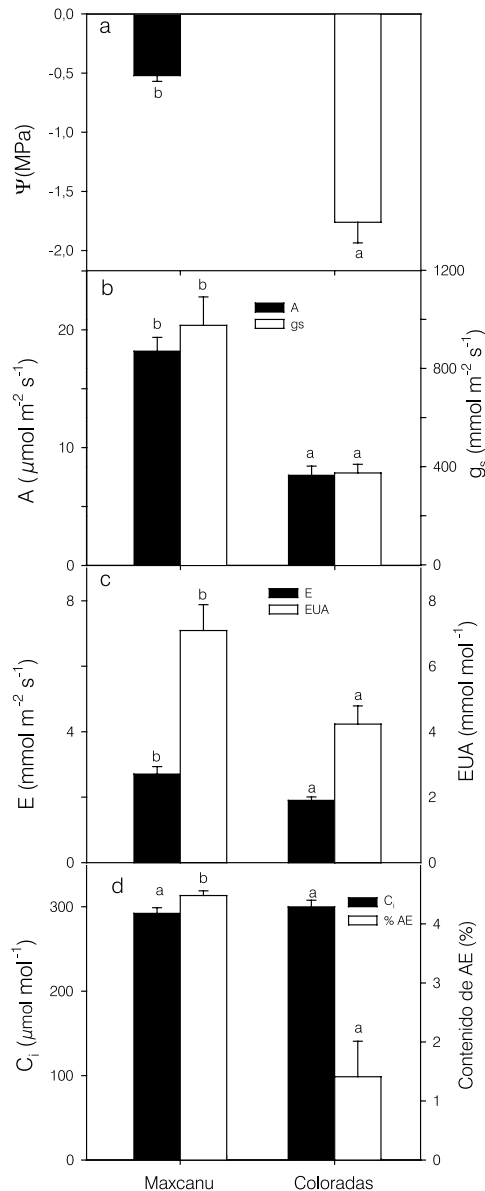


Figura 1. a: potencial hídrico ( $\Psi$ ); b: fotosíntesis ( $A$ ) y conductancia estomática ( $g_s$ ); c: transpiración ( $E$ ) y eficiencia de uso de agua instantánea ( $EUA$ ); d: concentración intercelular de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) y contenido de aceites esenciales ( $AE$ ), en hojas de *Lippia graveolens* en las dos localidades del estudio. Letras diferentes indican diferencias significativas. Cada valor representa la media  $\pm$ ES, n= 5, excepto para %AE, donde n= 3).

rencias en  $C_i$  entre poblaciones (Figura 1d), por lo que la relación  $C_i/C_a$  se mantuvo constante (0,81) en las dos poblaciones.

### Contenido de aceites esenciales

Los mayores valores de AE fueron observados en plantas de Maxcanú, población con mayores  $A$  y  $g_s$  (Figura 1d).

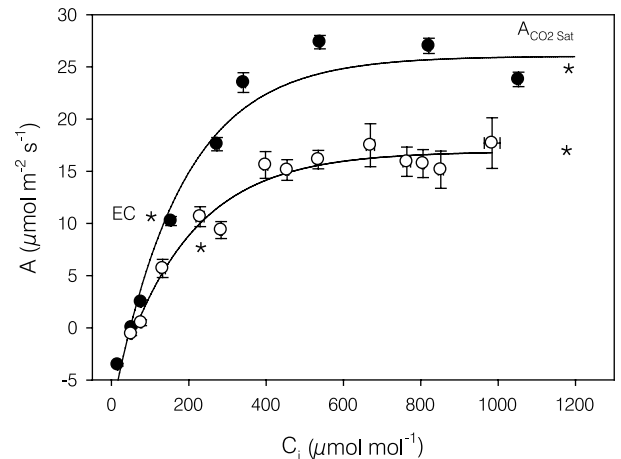


Figura 2. Respuesta de la fotosíntesis ( $A$ ) a la concentración intercelular de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) en *Lippia graveolens* en Maxcanú ( $\bullet$ ) y Coloradas ( $\circ$ ). Cada valor representa la media  $\pm$ ES, n= 4. Los asteriscos indican diferencias significativas en  $EC$  y  $A_{CO_2\text{sat}}$  entre localidades.

bas localidades (Figura 1a). Los valores más altos se observaron en Maxcanú ( $-0,5 \text{ MPa}$ ), mientras que los más bajos se encontraron en Coloradas ( $-1,8 \text{ MPa}$ ), sugiriendo que las plantas de esta población estaban sometidas a DH.

*Lippia graveolens* mostró valores de  $A$  y  $g_s$  entre  $7,7$  y  $18,2 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  y entre  $374$  y  $975 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , respectivamente (Figura 1b). Los valores de  $A$ ,  $g_s$  y la transpiración ( $E$ ) fueron  $58$ ,  $61$  y  $30\%$  menores en las plantas de Coloradas que en las de Maxcanú (Figuras 1b, c). La  $EUA$  instantánea fue significativamente mayor en las plantas de Maxcanú (Figura 1c). No se observaron dife-

### Curvas $A/C_i$

A través del análisis de las curvas  $A/C_i$  se encontró que tanto  $A_{CO_2\text{sat}}$  como la  $EC$  fueron significativamente menores en la población de *L. graveolens* con menor  $\Psi$  hídrico (Coloradas; Figura 2). Las plantas de Maxcanú (con mayores  $\Psi$ ) tuvieron mayores  $A_{CO_2\text{sat}}$  y  $EC$  (Figuras 3a, b). La limitación estomática relativa ( $L_s$ ) fue de  $24\%$  en promedio, mientras que en la población estresada la limitación metabólica ( $L_m$ ) fue  $41\%$  (Figura 3c).

### Curvas $A/DFF$

Se observó una menor tasa de fotosíntesis a luz saturante ( $A_{DFF\text{sat}}$ ) y de la eficiencia cuántica aparente ( $\Phi_{CO_2}$ ) en individuos de la población estresada que las encontradas en la población con buen estado hídrico (Figuras 3a, b),

observándose un incremento en PCL sin diferencias en  $R_d$  (Figura 3d)

#### Curvas de A vs $T_f$

Las plantas de Maxcanú mostraron una alta A entre 30-35°C, siendo la  $T_{opt}$  de 33°C. Las plantas de Coloradas no mostraron variación en A en el mismo intervalo de temperaturas foliares, siendo los valores siempre inferiores

a las obtenidas en plantas de la región subhúmeda (Figura 4).

#### Fluorescencia de la clorofila a

La eficiencia cuántica máxima ( $F_v/F_m$ ) fue 0,81 y no se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

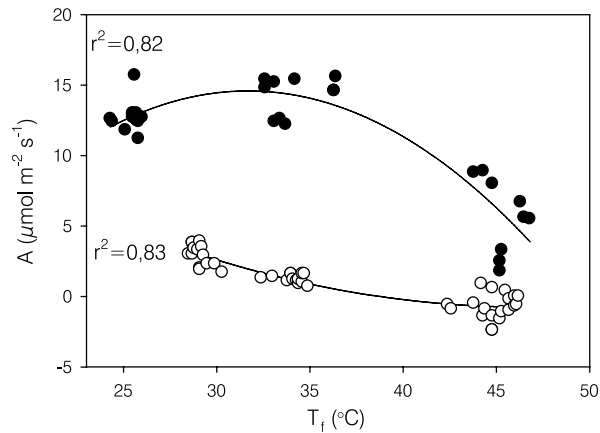


Figura 4. Respuesta de la fotosíntesis (A) a la temperatura foliar ( $T_f$ ) en *Lippia graveolens*, en Maxcanú (●) y Coloradas (○). Los coeficientes de determinación son mostrados en la gráfica.

entre localidades (Figura 5a). Sin embargo, se observó una menor actividad fotoquímica del PSII en las Coloradas: menores valores de  $\phi_{PSII}$  y  $q_p$  que en Maxcanú, mientras que  $q_N$  mostró los mayores valores (0,9) en Coloradas. (Figuras 5a, b), resultando como consecuencia en una disminución significativa de J del 44% (Figura 5c).

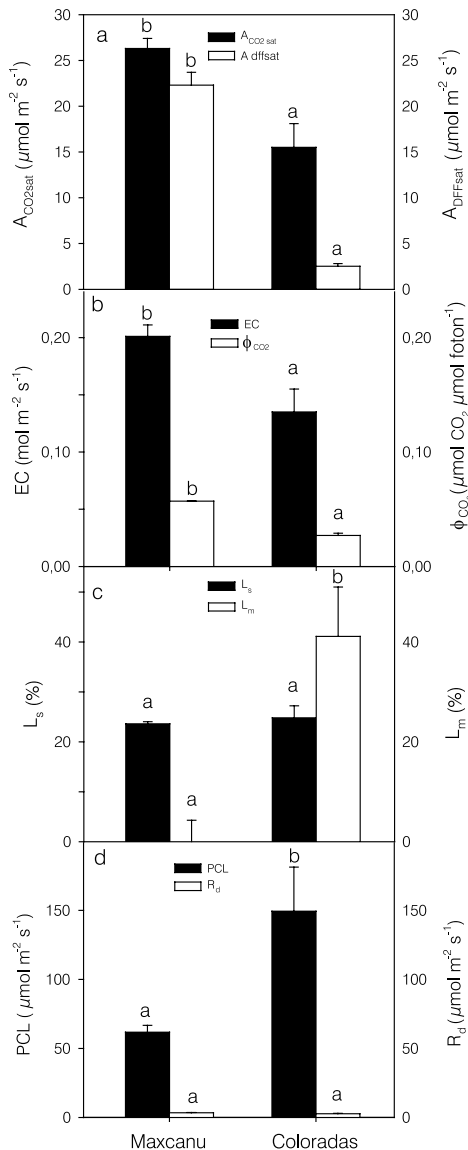


Figure. 3: a: fotosíntesis  $CO_2$ -saturada ( $A_{CO_2sat}$ ) y fotosíntesis DFF-saturada ( $A_{DFFsat}$ ); b: eficiencia de carboxilación (EC) y rendimiento cuántico aparente de la fijación de  $CO_2$  ( $\phi_{CO_2}$ ); c: limitación estomática relativa ( $L_s$ ) y limitación metabólica relativa ( $L_m$ ); d: punto de compensación de luz (PCL) y respiración en oscuridad ( $R_d$ ). Los resultados se presentan como medias  $\pm$ SE. Letras diferentes indican diferencias significativas para cada parámetro de  $p < 0,05$ .

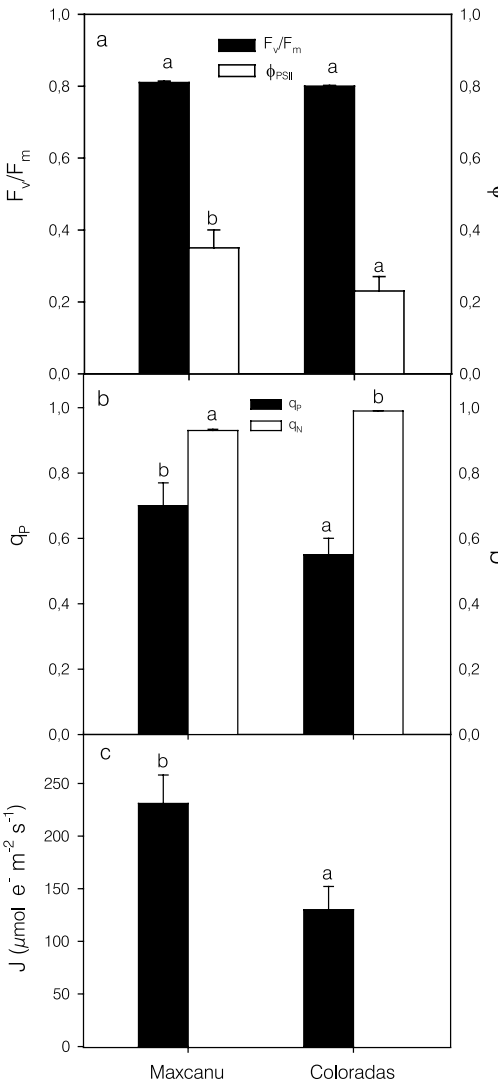


Figura 5: a: eficiencia cuántica máxima del PSII ( $F_v/F_m$ ) y rendimiento cuántico del PSII ( $\phi_{PSII}$ ); b: coeficiente de extinción fotoquímica ( $q_p$ ) y coeficiente de extinción no fotoquímica ( $q_N$ ); c: tasa de transporte de electrones (J). Los parámetros de fluorescencia se midieron a las 11:00 a una DFF de  $1200 \pm 40 \mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ . Los resultados se presentan como medias  $\pm$ SE. Letras diferentes indican diferencias significativas para cada parámetro de  $p < 0,05$ .

#### Correlación entre el contenido de AE y variables de intercambio gaseoso

El contenido de aceites esenciales en las poblaciones estudiadas de *L. graveolens* mostró una alta correlación con la capacidad fotosintética (con mayores A,  $A_{CO_2sat}$ ,  $A_{DFFsat}$ , EC, EUA y  $g_s$ ; Tabla III).

#### Discusión

El análisis de la capacidad fotosintética de las plantas de ambientes con diferentes regímenes de lluvia y su posible relación con el contenido de AE puede ser útil en el diseño de estrategias para el cultivo de *L. graveolens*. En este estudio, la población de Maxcanú (con un buen estado hídrico) mostró una mayor capacidad fotosintética (alta EC, EUA,  $q_p$ , A y  $g_s$ ) y un alto contenido de AE, mientras que la población de la localidad semiárida (Coloradas) tenían un contenido menor de AE y baja capacidad fotosintética. Los resultados también pusieron en evidencia que en plantas estresadas, la menor capacidad fotosintética estuvo asociada a una reducción de  $g_s$ ,  $A_{CO_2sat}$ , EC y de actividad fotoquímica (factores metabólicos), indicando que tanto factores estomáticos ( $L_s$  se mantuvo constante) como metabólicos (incremento en  $L_m$ ) afectaron coordinadamente a

TABLA III  
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE SPEARMAN ENTRE VARIABLES DE CAPACIDAD FOTOSINTÉTICA Y EL CONTENIDO DE AE, Y LOS NIVELES DE SIGNIFICANCIA

Variables de intercambio gaseoso	EC (mol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> )	A (μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> )	g <sub>s</sub> (mmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> )	EUA (mmol·mol <sup>-1</sup> )	A <sub>DFFSat</sub> (μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> )	A <sub>CO2sat</sub> (μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> )
Correlación						
R	0,87	0,88	0,87	0,87	0,87	0,76
p	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,03

la A, manteniendo C<sub>i</sub> constante y maximizando la eficiencia de uso de agua.

La población de hábitat subhúmedo (Maxcanú) mostró un buen estado hídrico (altos Ψ), mientras que las plantas con Ψ más bajos se encontraban en el ambiente semiárido (Coloradas) y sus hojas tenían poca turgencia. Las diferencias en el estado hídrico entre poblaciones podrían deberse tanto a diferencias en la precipitación anual de cada localidad como a la relación evapotranspiración/precipitación. Los valores de Ψ fueron similares a los de otras especies xerófitas y arbustos siempreverdes en ecosistemas semiáridos (Tezara *et al.*, 2003, 2005, 2011).

La población con un buen estado hídrico también mostró altos valores de A y g<sub>s</sub> en comparación con la población que experimentó déficit hídrico (menor Ψ). La disminución de A<sub>CO2sat</sub> en la población estresada apoya la idea de que los factores asociados con la disminución de A a bajos Ψ, puede deberse a un aumento en la limitación metabólica (Lawlor, 2002; Lawlor y Tezara, 2009). Además, bajos valores de EC y A<sub>CO2sat</sub> en Coloradas podrían indicar una pérdida de contenido y/o actividad de Rubisco, como ha sido descrito para otras especies (Lawlor y Tezara, 2009).

Las plantas con Ψ más negativo mostraron menores valores de A y g<sub>s</sub>, sugiriendo que los estomas imponen una gran limitación sobre A. Sin embargo, la constancia en la relación C<sub>i</sub>/C<sub>a</sub> (0,81) en las dos poblaciones sugiere un balance entre las limitaciones estomáticas y metabólicas de la fotosíntesis en esta especie (Lawlor, 2002). Esto es consistente con numerosos estudios en los que se ha

reportado que ambos componentes son responsables de una disminución de la A durante la sequía (Lawlor, 2002; Tezara *et al.*, 2003, 2011).

La limitación estomática relativa (L<sub>s</sub>) promedio en ambas poblaciones fue de 24%, indicando que la fotosíntesis se redujo en un 24% con respecto a la tasa fotosintética que ocurriría a g<sub>s</sub> infinitas. Sin embargo, la contribución de la limitación metabólica en la población estresada fue del 41%, sugiriendo que los factores metabólicos tienen un peso importante en la regulación de A en *L. graveolens* en esta condición.

Una menor fotosíntesis a luz saturante (A<sub>DFFSat</sub>) y eficiencia cuántica aparente (Φ<sub>CO2</sub>) en la población sometida a déficit hídrico sugiere una menor capacidad para captar energía lumínica y un menor transporte de electrones; tal y como se ha reportado en *Lycium nodosum* (Tezara *et al.*, 2003). La eficiencia cuántica del PSII (Φ<sub>PSII</sub>), el coeficiente de extinción fotoquímico (q<sub>p</sub>) y el transporte de electrones (J) fueron menores en Coloradas como consecuencia del déficit hídrico, mientras que la cantidad de energía disipada en forma de calor (q<sub>N</sub>) fue mayor, al igual que lo reportado en dos especies xerófitas (Tezara *et al.*, 2005).

El hecho que en Maxcanú q<sub>p</sub> fue mayor que en Coloradas, con diferencias en q<sub>N</sub>, sugiere que un mayor contenido de AE podría ayudar a aliviar el estrés oxidativo. Es importante evaluar el papel de la cantidad y la calidad de los AE en las hojas de algunas especies sometidas a diferentes tipos de estrés, ya que se ha reportado que los aceites esenciales tienen diversas funciones ecológicas, tales como defensa o protección (Peñuelas y Estiarte, 1998), o po-

dría también mitigar los daños oxidativos en el cloroplasto causados por la acumulación de radicales libres en condiciones de sequía (Peñuelas and Llusà 2002; Delfine *et al.*, 2005; Nogués *et al.*, 2012). En *L. graveolens*, la eficiencia cuántica máxima (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>) no fue afectada, en concordancia con otros estudios (Lawlor y Cornic, 2002), indicando que la actividad del PSII es resistente al déficit hídrico y no hubo fotoinhibición.

En Maxcanú se observó que la temperatura óptima de la fotosíntesis estuvo en un intervalo amplio de temperatura (25-35°C), observándose que esta respuesta se vio fuertemente afectada por el déficit hídrico. Similares resultados han sido reportados en *Calotropis* (respuesta A a la T<sub>f</sub> a corto plazo; Tezara *et al.*, 2011). La temperatura foliar al mediodía en la población subárida fue más alta (36°C) que en las poblaciones subhúmeda (33°C), debido posiblemente a una mayor E. Estos cambios en la temperatura foliar, relaciones hídricas y actividad fotoquímica pueden ser indicadores de las diferencias encontradas entre las poblaciones en la eficiencia de uso de agua.

Se encontró una correlación positiva significativa entre la capacidad fotosintética (mayores valores de A, A<sub>CO2sat</sub>, A<sub>DFFSat</sub>, EC, EUA y g<sub>s</sub>) y el contenido de AE en las poblaciones estudiadas de *L. graveolens*. La participación de gliceraldehído-3-fosfato y piruvato a partir del carbono fijado fotosintéticamente en la biosíntesis de terpenoides ha sido demostrada (Sangwan *et al.*, 2001; Delfine *et al.*, 2005) restándole importancia a la ruta del ácido mevalónico en la síntesis de AE (Sangwan *et al.*, 2001).

## Conclusiones

El mayor contenido de aceites esenciales en *L. graveolens* estuvo asociado con una mayor capacidad fotosintética (A, g<sub>s</sub>, EC, EUA, tasa fotosintética a CO<sub>2</sub> y DFF saturante) en contraste con otros cultivos aromáticos. El DH disminuyó la A a través de una reducción coordinada de g<sub>s</sub> y de factores metabólicos (A<sub>CO2sat</sub>, EC, Φ<sub>PSII</sub>, q<sub>p</sub>) que mantuvieron constante la relación C<sub>i</sub>/C<sub>a</sub>, previniendo la fotoinhibición crónica y optimizando el uso del agua. Los resultados obtenidos constituyen una base para estudios posteriores donde se analice la relación existente entre la producción de AE de *L. graveolens* y variaciones en la disponibilidad de agua en condiciones naturales, para contribuir al conocimiento necesario para una utilización sostenible de este género en las diferentes regiones donde es cultivado con fines comerciales.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Rosa Urich por la lectura crítica del manuscrito y a Robert Us por la determinación de potencial hídrico y parámetros microclimáticos; al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo financiero para el desarrollo del proyecto CB-2008 N° 106389, y a FOMIX YUC-2008-C06 108231, coordinado por LM Calvo-Irabien.

## REFERENCIAS

- Bautista F, Palacio-Aponte G, Quintana P, Zinck JA (2011) Spatial distribution and development of soils in tropical karst areas from the Peninsula of Yucatan, Mexico. *Geomorphology* 135: 308-321.
- Calvo-Irabien LM, Yam-Puc JA, Dzib G, Escalante-Erosa F, Peñña-Rodríguez LM (2009) Effect of postharvest drying on the composition of Mexican oregano (*Lippia graveolens*) essential oil. *J. Herbs Spices Med. Plants* 15: 281-287.
- Cornic G (2000) Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture not by affecting ATP synthesis. *Trends Plant Sci.* 5: 187-188.

- Delfine S, Loreto F, Pinelli P, Tognetti R, Alvino A (2005) Isoprenoids content and photosynthetic limitations in rosemary and spearmint plants under water stress. *Agric. Ecosyst. Env.* 106: 243-252.
- Dunford NH, Silva-Vazquez R (2005) Effect of water stress on plant growth and thymol and carvacrol concentrations in Mexican oregano grown under controlled conditions. *J. Appl. Hortic.* 7: 20-22.
- Farahani HA, Valadabadi SA, Danehshian JM, Khalvati MA (2009) Evaluation changing of essential oil of balm (*Melissa officinalis* L.) under water deficit stress conditions. *J. Med. Plant Res.* 3: 329-333.
- Farquhar GD, Sharkey TD (1982) Stomatal conductance and photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 33: 317-345.
- Genty B, Briantais JM, Baker NR (1989) The relationships between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* 990: 87-92.
- Hay RKM (1993) Physiology. En Hay KMR, Waterman PG (Eds.) *Volatile Oil Crops*. Longman. Essex, RU. pp. 23-46.
- Hernández T, Canales M, Avila JG (2003) Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitlán de las Salinas, Puebla (México). *J. Ethnopharm.* 88: 181-188.
- Jacob J, Lawlor DW (1991) Stomatal and mesophyll limitations of photosynthesis in phosphate deficient sunflower, maize and wheat plants. *J. Exp. Bot.* 42: 1003-1011.
- Krall JP, Edwards GE (1992) Relationship between photosystem II activity and CO<sub>2</sub> fixation in leaves. *Physiol. Plant.* 86: 180-187.
- Lawlor DW (2002) Limitation to photosynthesis in water stressed leaves: stomata versus metabolism and the role of ATP. *Ann. Bot.* 89: 871-885.
- Lawlor DW, Cornic G (2002) Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell Env.* 25: 275-294.
- Lawlor DW, Tezara W (2009) Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: A critical evaluation of mechanisms and integration of processes. *Ann. Bot.* 103: 561-579.
- Martínez-Rocha A, Puga R, Hernández-Sandoval L, Loarca-Piña G, Mendoza S (2008) Antioxidant and antimutagenic activities of Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth). *Plant Foods Hum. Nutr.* 63: 1-5.
- Nogués I, Peñuelas J, Llusà J, Estiarte M, Munné-Bosch S, Sardans J, Loreto F (2012) Physiological and antioxidant responses of *Erica multiflora* to drought and warming through different seasons. *Plant Ecol.* 213: 649-661.
- Nunes C, de Sousa SA, da Silva JM, Salema FMP, Bernardes da Silva A (2008) Physiological responses of the legume model *Medicago truncatula* cv. Jemalong to water deficit. *Env. Exp. Bot.* 63: 289-296.
- Orellana R, Balam M, Bañuelos I, García E, González-Iturbe JA, Herrera F, Vidal J (1999) Evaluación climática. En García de Fuentes A, Córdoba y Ordóñez J, Chico Ponce de León P (Eds.) *Atlas de Procesos Territoriales de Yucatán*. Universidad Autónoma de Yucatán. México. pp. 62-182.
- Peñuelas J, Estiarte M (1998) Can elevated CO<sub>2</sub> affect secondary metabolism and ecosystem function? *Tree* 13: 20-24.
- Peñuelas J, Llusà J (2002) Linking photorespiration, monoterpenes and thermotolerance in *Quercus*. *New Phytol.* 155: 227-237.
- Petropoulos SA, Daferera D, Polissiou MG, Passam HC (2008) The effects of water deficits stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. *Sci. Hort.* 115: 393-397.
- Portillo-Ruiz MC, Viramontes-Ramos S, Muñoz-Castellanos LN, Gastélum-Franco MG, Nevárez-Moorillón GV (2005) Antifungal activity of Mexican Oregano (*Lippia berlandieri* Shauer). *J. Food Prot.* 68: 2713-2717.
- Rocha-Guzmán NE, Gallegos-Infante JA, González-Laredo RF (2007) Antioxidant effect of oregano (*Lippia berlandieri* v. Shauer) essential oil and mother liquors. *Food Chem.* 102: 330-335.
- Salgueiro LR, Cavaleiro C, Gonçalves MJ, Proença da Cunha A (2003) Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Lippia graveolens* from Guatemala. *Planta Med.* 69: 80.
- Sangwan RS, Farooqi AHA, Bansal RP, Sangwan NS (1993) Interspecific variation in physiological and metabolic responses of five species of *Cymbopogon* to water stress. *J. Plant Physiol.* 142: 618-622.
- Sangwan NS, Farooqi AHA, Sangwan RS (1994) Effect of drought stress on growth and essential oil metabolism in lemongrasses. *New Phytol.* 128: 173-179.
- Sangwan NS, Farooqi AHA, Shabih F, Sangwan RS (2001) Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regul.* 34: 3-21.
- Schulze E, Robichaux R, Grace J, Rundel P, Ehleringer J (1987) Plant water balance. *BioScience* 37: 32-36.
- Shabin F, Farooqi AHA, Ansari SR, Sharma S (1999) Effect of water stress on growth and essential oil metabolism in *Cymbopogon martinii* cultivars. *J. Essent. Oil Res.* 11: 491-496.
- Silva-Vazquez R, Dunford NT (2005) Bioactive components of Mexican oregano oil as affected by moisture and plant maturity. *J. Essent. Oil Res.* 17: 668-671.
- Soto MA, González-Medrano F, Sánchez O (2007) Evaluación del riesgo de extinción de *Lippia graveolens* de acuerdo al numeral 5.7 de la NOM-059-SEMARNAT-2001. En Sánchez O, Medellín R, Aldama A, Goettsch B, Soberón J, Tambutti M (Eds.) *Método de Evaluación del Riesgo de Extinción de las Especies Silvestres en México (MER)*. SEMARNAT, INE, UNAM, CONABIO. México. pp. 91-110.
- Terblanché F, Kornelius G (1996) Essential oil constituents of the genus *Lippia* (Verbenaceae). A literature review. *J. Essent. Oil Res.* 8: 471-485.
- Tezara W, Martínez D, Rengifo E, Herrera A (2003) Photosynthetic responses of the tropical spiny shrub *Lycium nodosum* (Solanaceae) to drought, soil salinity and saline spray. *Ann. Bot.* 92: 757-765.
- Tezara W, Marín O, Rengifo E, Martínez D, Herrera A (2005) Photosynthesis and photoinhibition in two xerophytic shrubs during drought. *Photosynthetica* 43: 37-45.
- Tezara W, Driscoll S, Lawlor DW (2008) Partitioning of photosynthetic electron flow between CO<sub>2</sub> assimilation and O<sub>2</sub> reduction in sunflower plants under water deficit. *Photosynthetica* 46: 127-134.
- Tezara W, Colombo R, Coronel I, Marín O (2011) Water relations and photosynthetic capacity of two species of *Calotropis* in a semiarid ecosystem. *Ann. Bot.* 107: 397-405.
- Tucker AO, DeBaggio T (2009) *The Encyclopedia of Herbs: A Comprehensive Reference to Herbs of Flavor and Fragrance* (2<sup>nd</sup> ed.). Timber Press. Portland, OR, EEUU. pp. 298-299.
- Wullschlegel S, Tschaplinski T, Norby R (2002) Plant water relations at elevated CO<sub>2</sub> implications for water-limited environments. *Plant Cell Env.* 25: 319-331.