

**RESPUESTAS DE *Vanilla planifolia* Jacks. ANTE VARIACIONES
MICROAMBIENTALES BAJO ARREGLOS AGROFORESTALES EN UN
BOSQUE SECO TROPICAL**

Natalia María Gómez López



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE MEDELLÍN
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
POSGRADO BOSQUES Y CONSERVACIÓN AMBIENTAL
2012**

**RESPUESTAS DE *Vanilla planifolia* Jacks. ANTE VARIACIONES
MICROAMBIENTALES BAJO ARREGLOS AGROFORESTALES EN UN
BOSQUE SECO TROPICAL**

Natalia María Gómez López

**Tesis de Grado presentada como
requerimiento parcial para optar al título de
Magister en Bosques y Conservación Ambiental**

DIRECTOR

**Flavio Humberto Moreno Hurtado
Ingeniero Forestal, Ph.D.
Departamento de Ciencias Forestales**



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

SEDE MEDELLÍN

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

POSGRADO BOSQUES Y CONSERVACIÓN AMBIENTAL

Dedicatoria

Al Juancho, Jorge (mi Hermano) y Caliche,
que nunca me dejaron desfallecer.
A mi familia que siempre ha estado
en todos mis momentos importantes.

CONTENIDO

Resumen.....	4
Introducción	6
Materiales y Métodos.....	9
Localización.....	9
Parcelas experimentales establecidas.....	9
Poblaciones vegetales incluidas en el estudio.....	10
Evaluación de variables de dinámica.....	10
Crecimiento.....	10
Mortalidad.....	12
Evaluación de variables funcionales.....	12
Acidez titulable.....	13
Fluorescencia de la clorofila.....	14
Evaluación de variables microclimáticas.....	14
Resultados.....	16
Respuestas de variables de dinámica.....	16
Crecimiento.....	16
Mortalidad.....	17
Respuestas funcionales.....	18
Acidez titulable.....	18
Fluorescencia de la clorofila.....	18
Microclima.....	18
Discusión.....	22
Crecimiento y mortalidad.....	22

Respuestas funcionales.....	25
Conclusiones.....	27
Agradecimientos.....	28
Bibliografía.....	29
Anexos.....	46

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación general del área de estudio.....	34
Figura 2. Efectos principales de las variables: A) Especie de árbol tutor (Bo: <i>B. orellana</i> , Gs: <i>G. sepium</i>), B) Densidad de siembra (A:alta, M: media), covariable tamaño de planta: 1 pequeñas (< 20 cm de longitud), 2 medianas (21-41 cm) y 3 grandes (> 42 cm) sobre logaritmo del crecimiento medio mensual en longitud. Las barras verticales representan intervalos de confianza al 95%.	35
Figura 3. Frecuencias relativas por factor para las tablas de contingencia de crecimiento medio mensual igual a cero de plantas de <i>V. planifolia</i> . Tamaño de planta*Especie de árbol tutor*Densidad de siembra. Tamaño de planta: 1 pequeñas (< 20 cm de longitud), 2 medianas (21-41 cm de longitud) y 3 grandes (> 42 cm de longitud). Especie de árbol tutor: Bo: <i>B. orellana</i> y Gs: <i>G. sepium</i> . Densidad de siembra: A:alta y M: media.....	36
Figura 4. Frecuencias relativas por factor para las tablas de contingencia de mortalidad <i>V. planifolia</i> : Tamaño de planta x Especie de árbol tutor x Densidad de siembra. Tamaño de planta: 1 pequeñas (< 20 cm de longitud), 2 medianas (21-41 cm de longitud) y 3 grandes (> 42 cm de longitud). Especie de árbol tutor: Bo: <i>B. orellana</i> y Gs: <i>G. sepium</i> . Densidad de siembra: A:alta y M: media.....	37
Figura 5. Efectos principales de las variables: A) Especie de tutor (Bo: <i>B. orellana</i> , Gs: <i>G. sepium</i>) y B) Densidad de siembra (A:alta, M: media) sobre la acidez tisular.....	38
Figura 6. Efectos principales de las variables: A) Especie de tutor (Bo: <i>B. orellana</i> , Gs: <i>G. sepium</i>) y B) Densidad de siembra (A:alta, M: media) sobre la fluorescencia de la clorofila (F_v/F_m).	39
Figura 7. Curso promedio diario de la temperatura (A) y la humedad relativa (B) a campo abierto (afuera) y en el interior de plantaciones de <i>V. planifolia</i> que crecen bajo árboles tutores de <i>B.</i>	

Orellana (Bo) y *G. sepium* (Gs), y en dos densidades de siembra: alta (A) y media (M).
40

Figura 8. Comparación de medias para las variables microclimáticas entre tratamientos: A) Temperatura, B) Humedad relativa, y C) PAR (radiación fotosintéticamente activa, por sus siglas en inglés); en los diferentes arreglos agroforestales donde se sembró *V. planifolia*. Bo-A: árboles tutores de *B. orellana* a densidad de siembra alta, Bo-M: *B. orellana* a densidad de siembra media, Gs-A: árboles tutores de *G. sepium* a densidad de siembra alta, y Gs-M: *G. sepium* a densidad de siembra media.41

Figura 9. Fotografías hemiesféricas de microclimas contrastantes. A. Corresponde al tratamiento *G. sepium* a densidad de siembra media. B. Corresponde al tratamiento *B. orellana* a densidad de siembra alta.....42

Figura 10. Curso promedio diario de la temperatura del déficit de presión de vapor en el interior de plantaciones de *V. planifolia* que crecen bajo árboles tutores de *B. Orellana* (Bo) y *G. sepium* (Gs), y en dos densidades de siembra: alta (A) y media (M).....43

Figura 11. Comparación de medias para la variables déficit de presión de vapor (KPa) en los diferentes arreglos agroforestales donde se sembró *V. planifolia*. Bo-A: árboles tutores de *B. orellana* a densidad de siembra alta, Bo-M: *B. orellana* a densidad de siembra media, Gs-A: árboles tutores de *G. sepium* a densidad de siembra alta, y Gs-M: *G. sepium* a densidad de siembra media. Las barras verticales indican los límites de confianza al 95%.....44

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Variables ambientales registradas en los diferentes arreglos agroforestales donde se sembró *V. planifolia*. Bo-A: árboles tutores de sistema bajo tutores de *B. orellana* a densidad de siembra alta, Bo-M: *B. orellana* a densidad de siembra media, Gs-A: árboles tutores de *G. sepium* a densidad de siembra alta, y Gs-M: *G. sepium* a densidad de siembra media. FSD: factor de sitio directo, FSI: factor de sitio indirecto, IAF: índice de área foliar, FSG: factor de sitio global, AD: apertura del dosel, PAR: radiación fotosintéticamente activa, y Es: error estándar. IR: iluminación relativa en cada uno de los tratamientos. El error estándar de los valores promedios se encuentra en paréntesis.....33

RESPUESTAS DE *Vanilla planifolia* Jacks. ANTE VARIACIONES MICROAMBIENTALES BAJO ARREGLOS AGROFORESTALES EN UN BOSQUE SECO TROPICAL

Gómez López, NataliaMaría^{1,3}; Moreno Hurtado, Flavio Humberto²

1. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ciencias Forestales, Maestría en Bosques y Conservación Ambiental. Calle 59a 63-020, Autopista Norte, bloque 20, oficina 204, tel: (57-4) 4309018, fax: (57-4) 4309134, A.A. 1027, Medellín, Código Postal 050034. Colombia.

2. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ciencias Forestales, Grupo de Investigación en Ecología y Silvicultura de Especies Forestales Tropicales. Calle 59a 63-020, Autopista Norte, bloque 14, oficina 422, tel: (57-4) 4309126, fax: (57-4) 4309134, A.A. 1027, Medellín, Código Postal 050034. Colombia.

3. Dirección electrónica para correspondencia: nmgomez0@unal.edu.co

Resumen

Vanilla planifolia (vainilla), en condiciones naturales crece en bordes de bosque, donde parece ser tolerante a gran cantidad de rangos ambientales. Presenta hábito de crecimiento hemiepífita y tolerancia a la sombra, por lo cual, su cultivo normalmente se orienta hacia arreglos agroforestales y, postula su producción como una alternativa ambiental y ecológicamente deseable. Lo anterior, aunado a la importancia comercial de la vainilla, otorga gran importancia al estudio de su crecimiento y producción, considerando que aún son pocas las investigaciones realizadas al respecto. En esta investigación se estudian respuestas de dinámica (crecimiento y mortalidad) y respuestas funcionales (acidez titulable y fluorescencia de la clorofila) para evaluar el comportamiento de vainillas bajo distintos tratamientos culturales en arreglos agroforestales en un bosque seco tropical (Nordeste de los Andes, Colombia); estos tratamientos combinan dos especies de árbol tutor: *Gliricidia sepium* y *Bixa orellana*, bajo dos densidades de siembra: media (2.5 m x 4.5 m) y alta (2.5 m x 2.0 m). Cada dos meses se midió la longitud total del esqueje de vainilla y se calculó el crecimiento medio mensual en longitud (CMM L, en cm mes^{-1}); hacia la parte final del ensayo se realizaron pruebas de fluorescencia de la clorofila y acidez titulable, sobre la planta que mejor creció en las parcelas. La especie de tutor y densidad de siembra configuran diferentes microclimas. Los mejores crecimientos se encontraron para las vainilla asociadas al tutor *Gliricidia sepium* y con tamaños de planta que superaban los 50 cm de longitud.

Palabras claves

Crecimiento, metabolismo ácido de las crasuláceas, fluorescencia de la clorofila, acidez titulable, árbol tutor, densidad de siembra, microclima, bosque seco.

Abstract

Vanilla planifolia (vanilla), grows in the wild in forest edges, where it seems to be tolerant of many environmental ranges. Presents hemiepiphyte growth habit and shade tolerance, thus, its cultivation is usually oriented towards agroforestry systems and production posits as an alternative environmentally and ecologically desirable. This, coupled with the commercial importance of vanilla, attaches great importance to the study of growth and production, considering that even little research conducted in this connection. In this research we study dynamic responses (growth and mortality) and functional responses (titratable acidity and chlorophyll fluorescence) to evaluate the performance of vanilla under different cultural treatments agroforestry arrangements in a tropical dry forest (North of the Andes, Colombia); these treatments combine two host tree species: *Gliricidia sepium* and *Bixa orellana*, under two planting densities: medium (2.5 m x 4.5 m) and high (2.5 m x 2.0 m). Every two months we measured the total length of the cutting of vanilla and estimated average monthly growth in length (CMM L, in cm month^{-1}), toward the end of the trial were tested for chlorophyll fluorescence and titratable acidity, on the plant that grew on the plots better. The kind of tutor and seeding set different microclimates. The best growths were found for vanilla *Gliricidia* tutor associated with plant sizes exceeding 50 cm in length.

Key words

Growth, crassulacean acid metabolism, host tree, planting density, microclimate.

Introducción

El género *Vanilla* (Orchidaceae) comprende unas 107 especies de orquídeas hemiepífitas distribuidas en el pantrópico, que crecen de manera natural en poblaciones hiperdispersas, con preferencia en bordes de bosque (Lubinsky *et al.* 2006, Householder 2007, Soto-Arenas y Cribb 2010, Soto-Arenas y Dressler 2010), bajo disponibilidad limitada de agua, luz y nutrientes (Cervantes *et al.* 2005). Como otras especies de orquídeas y epífitas de los bosques tropicales, las de este género presentan adaptaciones morfológicas y funcionales especializadas para crecer con las limitaciones mencionadas (Arditti, 1982).

La especie más importante económicamente es *V. planifolia* (vainilla), nativa de América tropical, desde México hasta Ecuador (Soto-Arenas 1999, Lubinsky *et al.* 2008). Se cultiva en climas cálidos y bajo sistemas agroforestales, en los cuales las especies leñosas proveen el sostén y sombrío requeridos por su hábito de crecimiento hemiepífito y su intolerancia a la plena exposición solar (Anilkumar 2004, Mcgregor 2005). La vainilla tiene gran importancia comercial en la industria alimenticia, cosmética, farmacéutica y de aseo, por lo cual alcanza precios altos en los mercados internacionales. A pesar de que su producción puede constituir una alternativa económica y ecológicamente deseable (Ranadive 2003, Damirón 2004, Bythow 2008), para la vainilla en Colombia no se ha publicado información de carácter científico que de claridad acerca de las condiciones ambientales ideales para el desarrollo de su cultivo.

La morfología de la vainilla se caracteriza por tallos y hojas suculentas (Puthur 2005). Las raíces terrestres se desarrollan sin profundizar en el suelo (Ramírez *et al.* 1999) y forman

simbiosis micorrízicas (Porrás-Alfaro y Bayman 2007). En los nudos, al lado opuesto de la hoja, desarrollan raíces aéreas con las que se adhiere a los tallos de los árboles que le sirven de soporte (Damián 2004, **McGregor 2005**). Por ser una planta con metabolismo CAM (*Crassulacean Acid Metabolism*, por sus siglas en Inglés; Zhang *et al.* 1993, Gehrig *et al.* 1998, Silvera *et al.* 2005, Silvera *et al.* 2009), presenta pérdida mínima de agua por unidad de carbono fijado durante la fotosíntesis (Fu y Hew 1982, Lüttge 2004, Stancato *et al.* 2002). Además, exhibe alta capacidad fotoprotectora (Griffiths y Maxwell 1999), por lo cual limita la fotorrespiración (Ting 1985, Lüttge 2004).

Los arreglos agroforestales con vainilla suelen constar de árboles tutores y árboles acompañantes (Hernández y Lubinsky 2010), cuya combinación busca establecer un dosel protector y generar un microclima apropiado para la planta (Olivares-Soto 2010), el cual es altamente sensible a las características del dosel (densidad de ocupación y arquitectura de los árboles, entre otros) y sus cambios (Chen *et al.* 1999). Tales características afectan básicamente la exposición solar y a los vientos, los que a su vez producen fluctuaciones en la temperatura y humedad del aire (Colley *et al.* 2000). La interacción de las plantas con su entorno afecta sus respuestas dinámicas (crecimiento y mortalidad) y funcionales (fotosíntesis) y, en últimas, determina sus tasas de ganancia de biomasa (Lambers 1998, Berlyn y Cho 2000, Zotz y Andrade 2002, Hogan y Machado 2006, Valladares 2006).

Cuando una planta tolerante a la sombra con metabolismo tipo CAM como *V. planifolia* es sometida a alta radiación solar y temperatura (lo cual normalmente está acompañado de baja humedad del aire), se desencadenan mecanismos de desacoplamiento y desactivación

en torno al fotosistema II, debido a que la intensidad de luz sobrepasa la capacidad de absorción y transformación de la planta. Tales mecanismos buscan minimizar el daño global sobre el aparato fotosintético y, por tanto, proteger a la planta mediante la maximización de la disipación de la energía (Nelson y Yocum 2006, De las Rivas 2008).

Por otra parte, cantidades de luz muy bajas, menores a las requeridas, que disminuyen la temperatura y aumentan la humedad relativa, suelen reducir las tasas fotosintéticas y el crecimiento, aunque la respiración se mantiene relativamente constante (Lüttge 2004). Como consecuencia, se espera que el mayor crecimiento y desarrollo de la vainilla bajo arreglos agroforestales en un bosque seco tropical, ocurra bajo condiciones intermedias de iluminación, temperatura y humedad relativa.

El objetivo del presente estudio fue evaluar la dinámica (crecimiento y mortalidad) y las características funcionales de plantas de vainilla cultivadas bajo distintos arreglos agroforestales, constituidos por dos densidades de siembra y dos especies de árbol tutor, en una zona seca tropical. Las preguntas centrales de nuestra investigación fueron: ¿Cómo influyen las combinaciones de los arreglos agroforestales en el crecimiento y la mortalidad? y ¿Cómo modifican la funcionalidad en plantas de vainilla?.

Materiales y Métodos

Localización

La fase de campo se desarrolló en zona correspondiente al cañón del río Cauca (6°28'20.5"N; 75°49'19.8"W, 480 msnm), perteneciente al municipio de Sopetrán, Occidente Medio antioqueño (Figura 1). La precipitación promedio anual entre 2010 y 2011 fue 1750.64 ± 150.00 mm y presentó un período seco (donde precipitación – evapotranspiración potencial < 0), entre octubre y mayo. La temperatura promedio anual es 25.17°C, con promedio mínimo de 22.95°C y máximo de 27.00°C. La zona de vida, según Holdridge (2000), es bosque seco tropical (bs-T). El ensayo se encuentra en un terreno plano y sobre suelo homogéneo, en una terraza del río Cauca; el cual previamente, tenía una destinación para uso agrícola.

Parcelas experimentales establecidas

En octubre de 2008 se establecieron 16 parcelas completamente al azar, con dos especies de árboles tutores y dos densidades de siembra, de esta forma, se establecieron cuatro repeticiones (parcelas) por combinación de especie y densidad. Las especies de tutores que se emplearon fueron *G. sepium* (matarratón) y *B. orellana* (achiote). Las distancias de siembra variaron según el tratamiento de densidad: 2.5 m x 2.5 m (densidad alta) y 2.5 m x 4.0 m (densidad media).

Se sembraron estacas de 4-6 cm de diámetro y 130 cm de largo, aproximadamente, de *G. sepium* y plántulas de (diámetro) 15-25 cm de altura de *B. orellana*. En junio de 2010, una

vez establecido el dosel de los árboles tutores (sombrió), se sembraron de manera aleatoria esquejes de vainilla sobre la base de cada tutor, los cuales, debido a la heterogeneidad de tamaños, se clasificaron de la siguiente manera: plantas pequeñas (< 20 cm de longitud, n:78), medianas (entre 21 y 41cm, n:83) y grandes (entre 42 y 50 cm, n: 24).

Poblaciones vegetales incluidas en el estudio

Las estacas de *G. sepium* fueron colectadas de sectores aledaños al sitio del cultivo; las semillas de *B. orellana* fueron provistas por cultivadores del Urabá Antioqueño (noroccidente Colombiano). Las plántulas de *V. planifolia* fueron importadas de Costa Rica al laboratorio de plantas Twyford, son originarias de Madagascar, un híbrido de *V. planifolia* x *V. pompona* que llegó a Costa Rica hace 20 años, y su cultivo se ha extendido en muchas zonas de ese país reemplazando materiales susceptibles a enfermedades del suelo.

Evaluación de variables de dinámica

Crecimiento

Para evaluar las diferencias de crecimiento asociadas a los tratamientos, se midió cada dos meses durante 10 meses la longitud total del eje principal de las plantas de vainilla, como variable biométrica predictora de la biomasa. Debido a su hábito de crecimiento monopodial, esto es, dominancia del meristemo apical en el crecimiento del individuo (Hernández-Apolinar 1997), se escogió el crecimiento medio mensual en longitud (CMM L, en cm mes^{-1} , Ecuación 1) como descriptor adecuado, no destructivo, de la ganancia de biomasa de las plantas de vainilla.

$$CMM L = \frac{l_f - l_i}{t_f - t_i} (1)$$

Donde: l_f = longitud final (cm), l_i = longitud inicial (cm), t_f = tiempo final (meses) y t_i = tiempo inicial (meses).

Para determinar el efecto de la densidad de siembra, la especie de árbol tutor y el tamaño inicial de la planta sobre el crecimiento de las vainillas, se utilizó un análisis de varianza (ANAVA) en un diseño factorial 2x2 y se empleó como covariable el tamaño inicial de los esquejes. Estos análisis fueron realizados mediante el *software* estadístico Statgraphics XVI.

La variable dependiente del modelo (Ecuación 2) corresponde al vector logaritmo de CMM L, por planta, para las vainillas vivas que crecieron en el último período de medición y que, adicionalmente, hubieran superado el período de estrés postrasplante (por lo menos dos meses luego de su establecimiento). Se usó la transformación logarítmica porque la variable original no se distribuyó de manera normal (*Shapiro – Wilk* (SW, $P > 0.05$); para el análisis de homogeneidad de las varianzas se utilizó la prueba de *Cochran* (C) $P > 0.05$. Se empleó la prueba F y el valor P ($\alpha < 0.05$) para evaluar la existencia de diferencias significativas entre los factores y los niveles evaluados.

$$\text{Log}(CMM L) = \alpha + \beta(DS - TP) + \gamma(ET - TP) + \delta(DS * ET - TP^2) + \varepsilon \quad (2)$$

Donde: Log (CMM L)= logaritmo del crecimiento medio mensual en longitud (cm mes⁻¹), α = efecto general, DS= variable densidad de siembra (factor), ET= variable especie de tutor (factor), TP= Tamaño de planta (covariable), β , γ , δ , = efectos debidos a cada variable, ε = efecto aleatorio.

Se evaluaron las plantas con presencia de ceros en el crecimiento medio mensual en longitud, para las cuales se determinó la asociación entre el crecimiento cero bajo las combinaciones de factores ya descritos, a través del análisis de tablas de contingencia, con la prueba χ^2 , según se describe en el siguiente acápite.

Mortalidad

Para evaluar la combinación de factores con mayor frecuencia en la mortalidad de los esquejes de vainilla, se empleó el análisis de tablas de contingencia mediante el estadístico χ^2 con un nivel de significancia de 0.05 y con $(n-1)(k-1)(r-1)$ grados de libertad, bajo las hipótesis H_0 : Independencia entre los factores y H_a : Asociación entre los factores.

Con las probabilidades de ocurrencia del evento se realizó un gráfico del nivel de asociación, que relaciona las categorías de tamaño de planta (eje Y) y la especie de tutor y densidad de siembra (eje X). Entre más grande sea el cuadro significa que mayor es la probabilidad de ocurrencia de un evento.

Evaluación de variables funcionales

Para determinar la existencia de diferencias en el comportamiento funcional de las plantas de vainilla, se evaluó: acidez titulable y la fluorescencia de la clorofila. CAM es la única ruta fotosintética que provoca variación nocturna en la acidez del tejido de la planta, la cual es proporcional a la concentración de ácido málico en las vacuolas de las células (por cada molécula de CO_2 fijada por una planta CAM se produce una molécula de ácido málico), por lo tanto, el análisis de la acumulación de ácido en los tejidos, entre la noche y la mañana, se constituye en una técnica fácil, adecuada y económica para cuantificar y determinar el

comportamiento fotosintético de plantas que presentan dicho metabolismo (Andrade *et al.* 2007). La fluorescencia de la clorofila es un proceso fotofísico de las moléculas de clorofila, que ha demostrado ser una valiosa herramienta para la medición de los procesos primarios en el fotosistema II y, por tanto, del proceso fotosintético, puesto que, de manera no destructiva, da cuenta de la elaboración fotosintética y salud de las plantas (Henriques 2009).

Estas pruebas funcionales se realizaron durante la última fase de campo y para ello se seleccionó la planta de mayor crecimiento en cada parcela. Las mediciones se efectuaron sobre una hoja joven por planta, bien expandida, sin daños debidos a patógenos (Garnier *et al* 2001), las cuales se localizaron entre la cuarta y la octava hoja contadas a partir del ápice y sobre el tercio medio de la hoja. Para evaluar el efecto de la densidad de siembra y la especie de árbol tutor sobre las variables fisiológicas de la vainilla, se utilizó un análisis de varianza (ANAVA) en un diseño factorial 2x2 mediante el *software* Statgraphics XVI. Se empleó la prueba F y el valor P ($\alpha < 0.05$) para evaluar la existencia de diferencias significativas entre los factores y los niveles evaluados.

Acidez titulable

Para cuantificar la fotosíntesis por medio de la acidez tisular ($\text{mmol H}^+ \text{m}^{-2}$), se extrajeron dos muestras de lámina foliar por planta, de 1.5 cm de diámetro, la primera entre las 18:00 y 19:00 horas, la segunda entre las 06:00 y 07:00 horas. Éstas fueron transportadas en nitrógeno líquido con el fin de congelar rápidamente los tejidos y detener la actividad metabólica. Posteriormente fueron hervidas en 70 ml de alcohol al 20% y tituladas con 5

mM de NaOH hasta obtener un pH de 7.0 (Ecuación 3), medido con un potenciómetro Hanna Instruments, RO. La acidez titulable se obtuvo como la diferencia entre los valores diurnos menos los nocturnos (Silvera 2005).

$$\mu\text{mol H}^+/\text{m}^2 = \frac{X \text{ ml (NaOH agregados para pH 7,0)} \times 5 \text{ mN de NaOH}}{\text{Area de la muestra}} \quad (3)$$

Fluorescencia de la clorofila

Los registros de fluorescencia de la clorofila fueron obtenidos mediante un fluorómetro portátil de pulso modulado (Os-30p, Opti - Sciences inc. Hudson, USA). Se midió la eficiencia cuántica máxima (Ecuación 4) entre las 07:00 y 09:00 horas, cuando se espera que las plantas estén en fase III del metabolismo tipo CAM (Hsu 2007). Antes del registro, las hojas fueron adaptadas a la oscuridad durante 30 minutos.

$$F = \frac{F_v}{F_m} \quad (4)$$

Donde: F= Fluorescencia de la clorofila actual; F_v = Fluorescencia variable ($F_m - F_0$); F_0 = Fluorescencia inicial; F_m =Fluorescencia máxima.

Evaluación de variables microclimáticas

Se instalaron sensores que registraron humedad relativa (HR%) y temperatura (T°C) dentro de las parcelas y fuera de ellas durante 24 días del mes de abril de 2011 cada 30 minutos. Se usaron sensores y data Logger marca HOBO (HOBO Ware Pro, versión 2.7.2, Onset Computer Corporation 2002-2009). Para cada hora del día se calcularon los promedios de las variables.

Con el fin de evaluar las condiciones lumínicas debajo de los tutores, durante la última medición biométrica, tomamos fotografías hemisféricas en las seis plantas de vainilla centrales de cada parcela. Para esto se utilizó un lente “ojo de pescado” que se instaló en una cámara digital Nikon Coolpix 4800, la cual se fijó con un monópodo a 30 cm del suelo, se niveló y se orientó hacia el norte mediante la brújula incorporada en el marco del lente. Las fotografías se tomaron bajo condiciones de cielo nublado para evitar regiones sobreexpuestas, las cuales pueden ser interpretadas como aberturas del dosel por el *software* de procesamiento de imágenes (Hemiview Ver. 2.1). Los parámetros generados por el programa e incluidos en los análisis fueron: factor de sitio directo (FSD) y factor de sitio indirecto (FSI) y factor de sitio global (FSG) los cuales oscilan entre cero y uno (cero para lugares obstruidos y uno para lugares totalmente abiertos), apertura de dosel (AD) e índice de área foliar (IAF), el cual se define como la mitad del área total de los elementos del dosel por unidad de superficie de suelo. Para determinar diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros del microclima, hallamos intervalos de confianza para la media calculada.

FSG es considerado como una estimación proporcional de la radiación fotosintéticamente activa (PAR, por sus siglas en inglés), y puede ser traducido a valores absolutos de flujo de radiación para un período particular de tiempo, para lo cual se requieren mediciones de valores de radiación en sitios contiguos a plena exposición (Hemiview Ver. 2.1). En el área de estudio, a campo abierto, se instaló un sensor y un data logger marca HOBO (S- LIA-M003, H21-002 respectivamente) para radiación fotosintéticamente activa. La radiación

media en los sitios donde se capturaron las imágenes con las fotografías hemisféricas se obtuvo de multiplicar FSG por la radiación promedia diaria a plena exposición, obtenida entre las 6:00 y 18:00 horas ($607 \mu\text{moles m}^2\text{s}^{-1}$).

Adicionalmente, se estimó el déficit de presión de vapor (DPV), por medio Ecuación 5 (Arellano *et al.* 2006). Esta variable representa la demanda evaporativa de la atmósfera circundante y, por lo tanto, es un indicador de primer orden en la respuesta de la planta al ambiente (Azcón-Bieto y Talón 2008).

$$DPV = 0.61078 \exp\left(\frac{17.269 * T}{T + 237.3}\right) * \left(1 - \frac{HR}{100}\right) \quad 5$$

Donde: T= temperatura del aire (°C), HR= humedad relativa del (%)

Para evaluar el efecto del microclima sobre las variables de la dinámica y funcionales de las plantas de vainilla se efectuaron análisis de correlación y se evaluaron mediante la prueba de Pearson.

Resultados

Respuestas de variables de dinámica.

Crecimiento

La variable Log(CMM L) presentó distribución normal (SW=0.9711, $P=0.111$, gl.=128) y varianzas homogéneas ($Q=0.569$, $P=0.268$, gl=128). La asignación al azar de los tratamientos sobre las unidades experimentales, garantizó la independencia de los errores sobre la variable dependiente (Anexo A). Con lo anterior se confirma el cumplimiento de los supuestos del análisis de varianza.

Este análisis mostró que tanto el efecto principal de la especie de tutor ($F_{(1,123)}=8.22$, $P=0.0049$), la densidad de siembra de la planta ($F_{(1,123)}=8.5$, $P=0.0120$) y la covariable tamaño inicial del esqueje de *V. planifolia* ($F_{(1,123)}=13.43$, $P=0.0004$) tuvieron efectos significativos sobre el crecimiento longitudinal de las plantas de vainilla (Figura 2, Anexo B). La interacción densidad de siembra x especie de tutor no fue significativa ($F_{(1,123)}=2.85$, $P=0.0940$).

En el ensayo se registraron 57 (17.8%) plantas con crecimiento medio mensual igual a cero. El 91.2% de las plantas se encontró ubicado en la categoría tamaño de planta pequeñas y medianas, y el 8.8% restante en la categoría tamaño de planta grande. El 45.6% correspondió a plantas de vainilla bajo el árbol tutor *B. orellana* y el 54.4% bajo *G. sepium* (Figura 3). La prueba de χ^2 ($\chi^2_{\text{calculado}}=33.13$ vs. $\chi^2_{0.05}(2)=5.99$) indica que hay evidencia suficiente para rechazar la hipótesis de independiencencia entre los factores y sus niveles; es decir, existe asociación entre tamaño de planta, especie de tutor y densidad de siembra de los esquejes de vainilla que presentaron crecimiento igual a cero.

Mortalidad

En el último período de medición se registró 135 (42,2%) plantas muertas. El 91.2% de las plantas se encuentran ubicadas en la categoría tamaño de planta 1 y 2 y el 8.8% restante en la categoría 3. El 45.6% corresponde a plantas de vainilla bajo el árbol tutor *B. orellana* y el 54.4% bajo *G. sepium* (Figura 4). El valor $\chi^2_{\text{calculado}}=6.34$ y $\chi^2_{0.05}(2)=5.99$, por lo tanto, hay evidencia suficiente para rechazar la hipótesis de independiencencia entre los factores y sus niveles; existe asociación entre tamaño de planta, especie de tutor y densidad de siembra de

los esquejes de vainilla. El factor en el cual ocurren las diferencias es en el tamaño de la planta.

Respuestas funcionales

Acidez titulable

El efecto del factor principal especie de árbol tutor ($F_{(1,27)}=13.90$, $P=0.0009$) fue significativo sobre la acidez titulable, con valores superiores para matarratón, mientras que la densidad de siembra no lo fue ($F_{(1,27)}=0.11$, $P=0.74$). La interacción densidad de siembra \times especie de árbol tutor, tampoco mostró significancia estadística (Figura 5, Anexo C).

Fluorescencia de la clorofila

La fluorescencia de la clorofila no presentó diferencias significativas entre plantas que crecieron junto a diferentes especies de árboles tutores ($F_{(1,14)}=2.82$, $P=0.088$), ni bajo distintas densidades de siembra ($F_{(1,14)}=0.45$, $P=0.52$). De igual manera, la interacción entre éstas no resultó significativa. No obstante, la tendencia de los datos fue similar a la obtenida en la prueba de acidez titulable (Figura 6, Anexo D).

Microclima

La temperatura de todos los tratamientos mostró una alta variación entre los valores máximos y mínimos a lo largo del día (Tabla 1, Figura 7A, Anexo E). El tratamiento en el cual se registraron las temperaturas extremas (máximas y mínimas) fue *G. sepium* \times densidad alta: 32.48 (entre las 13:30 y 14:30 horas) y 22.01°C (entre las 5:00 y 6:30 horas).

Las temperaturas promedio, entre las distintas combinaciones de especie de árbol tutor x densidad de siembra, fueron estadísticamente diferentes en los cuatro tratamientos ($F_{(3,4745)}=156.46$, $P=0.00$). Los promedios de temperatura más altos se registraron en *G. sepium* y entre las densidades de siembra no se registró diferencia, los promedios más bajos se registraron en *B. orellana* con diferencias estadísticamente significativas entre densidades de siembra (Figura 8A).

En cuanto a la humedad relativa (HR), esta presentó un comportamiento aproximadamente inverso al de la temperatura (Figura 7B, Anexo F), en el tratamiento correspondiente al árbol tutor *B. orellana* a densidad de siembra alta se presentaron los valores extremos: máximo de 98.67%, (entre las 4:30 y las 7:00 horas), y mínimo 62.73% (entre 14:00 y 15:00 horas Tabla 1). Las humedades relativas promedio, entre las distintas combinaciones de especie de árbol tutor x densidad de siembra, fueron estadísticamente diferentes en los cuatro tratamientos ($F_{(3,4745)}=156.46$, $P=0.00$). Los promedios de humedad relativa más altos se registraron en *B. orellana* con diferencias estadísticamente significativas entre las densidades de siembra; los promedios más bajos se registraron en *G. sepium* con diferencias estadísticamente significativas entre densidades de siembra (Figura 8B).

Los doseles de los tratamientos presentaron índices de factor de sitio bajos (DSF, FSI y GSF, Tabla 1) con baja variabilidad dentro de cada tratamiento, lo cual indica una cobertura homogénea. La apertura del dosel varió entre 2.5% para el tratamiento menos iluminado (Bo-A) y 13.3% para el más iluminado (Gs-M); el índice de área foliar presentó comportamiento inverso al de los demás índices lumínicos calculados, con un valor mínimo

de 1.96 (Gs-M) y un máximo 4.31 (Bo-A). Aunque existieron diferencias, los índices de los tratamientos sugieren que, en general, la cobertura es densa y cerrada. Al multiplicar FSG por la PAR promedio diaria del lugar ($607\mu\text{moles m}^2\text{s}^{-1}$), se obtuvo la luminosidad para cada tratamiento (Tabla 1 y Figura 9). Estos valores, entre las distintas combinaciones de especie de árbol tutor x densidad de siembra, fueron estadísticamente diferentes en los cuatro tratamientos ($F_{(3,92)}=31.39$, $P=0.00$). Los promedios de luminosidad, presentaron la misma tendencia de la temperatura; los valores más altos se registraron en *G. sepium*, sin diferencias significativas entre las densidades de siembra; los promedios más bajos se registraron en *B. orellana* con diferencias estadísticamente significativas entre densidades de siembra (Figura 8C, Anexo G).

La variable déficit de presión de vapor (DPV), varió de acuerdo con el cambio en la temperatura a lo largo del día y presentó un comportamiento aproximadamente inverso al de la humedad relativa. El tratamiento correspondiente al árbol tutor *B. orellana* a densidad de siembra alta se presentaron los valores más bajos, lo cual coincide con una mayor humedad relativa y una temperatura y luminosidad bajas (Figura 10, Figura 8A, B y C). Los DPV promedios, entre las distintas combinaciones de especie de árbol tutor x densidad de siembra, fueron estadísticamente diferentes en los cuatro tratamientos ($F_{(3,4604)}=128.10$, $P=0.00$, Anexo H).

Mediante el análisis de correlación de Pearson (Tabla 1, coeficiente de correlación R^2 y valor P) fue posible determinar que la mayoría de las variables climáticas no presentan correlación con el logaritmo del crecimiento medio en longitud; sin embargo, dos de ellas

son estadísticamente significativas: humedad relativa promedio e índice de área foliar. Es así como el tratamiento que presentó mayor IAF y en consecuencia mayor humedad relativa (Bo-A) registró menores promedios de crecimiento.

Discusión

Crecimiento y mortalidad

Los análisis presentados muestran que tanto el efecto de la especie de tutor, la densidad de siembra de la planta y la covariable tamaño inicial del esqueje de *V. planifolia* tuvieron efectos significativos sobre el crecimiento de las plantas de vainilla. Probablemente, esto se deba a que la combinación de factores y sus diferentes niveles configuraron diferentes microclimas (Figura 8) que favorecieron o no el crecimiento de la especie hemiepífita en estudio. Es así como las mejores combinaciones de crecimiento se obtuvieron para las plantas de vainilla que crecieron bajo *G. sepium* y densidad de siembra media, y en oposición las vainillas bajo *B. orellana* densidad de siembra alta crecieron menos.

El árbol tutor *G. sepium* presenta copa esparcida, irregular de hojas compuestas, con pequeños folíolos caducos (Chezney y Vásquez 2007), lo cual permitió el paso de mayor cantidad de energía luminosa hasta el nivel de las plantas de vainilla, y por tanto modificar diferencialmente otros parámetros del microclima tales como temperatura y, fundamentalmente, la humedad relativa (Tabla 1). En comparación, el árbol tutor *B. orellana* exhibe copa densa, redondeada y hojas grandes perennes (Vásquez *et al* 2003), lo que reduce ostensiblemente la cantidad de luz que ingresa al sistema (expresado en un índice de área foliar mayor que en los demás tratamientos), produce ambientes oscuros y húmedos donde crecieron plantas de vainilla intensamente verdes y con mayor susceptibilidad al ataque de patógenos (observaciones de campo).

Trabajos demográficos de poblaciones naturales con plantas CAM, también permitieron establecer que la sombra profunda, al aumentar la humedad de la superficie de las plantas respecto a la humedad ambiental, disminuye la absorción de CO₂ y puede causar infecciones por hongos (Andrade y Nobel 1996, Griffiths 1999, Lüttgüe 2004). En este mismo sentido Zotz y Andrade (2002) resaltan la importancia de las microclimáticas para la distribución y crecimiento de las epífitas y hemiepífitas y exponen que la mayoría de estas plantas prefieren sitios intermedios: ni muy expuestos ni totalmente a la sombra, en cuanto a luz se refiere, reafirmando a la luz como una de las variables más influyentes en el crecimiento y desarrollo de las plantas.

La variable déficit de presión de vapor, también apoya los resultados de las demás variables del microclima, sus promedios se comportan de manera similar a los de luminosidad y temperatura y contrarios a los de humedad relativa, con una consecuente mejor respuesta en el crecimiento y fotosíntesis de las plantas; a mayor DPV mayor crecimiento y mayor fotosíntesis hasta que el balance sea favorable para este intercambio.

Asimismo, *G. sepium* por ser caducifolia, aporta materia orgánica permanentemente en el sitio; además, por ser fijadora de nitrógeno, mejora las condiciones edáficas (Foroughbakhch *et al* 2006), por lo cual probablemente provee nutrientes indispensables para el desarrollo de la planta de vainilla y aumenta la actividad biológica que allí ocurre (Andrade y Zotz 2006). No obstante, evaluar el efecto del tipo de sustrato sobre la nutrición de las plantas de vainilla escapa de los propósitos de este estudio.

Un tema transversal a la influencia de las variables que afectaron el crecimiento de las plantas de vainilla, fue el tamaño inicial del esqueje. Al resultar significativo su efecto (Anexo B) indica que tuvo incidencia sobre el aumento de la heterogeneidad del crecimiento medio mensual en longitud. El tamaño es un tema ampliamente estudiado en la ecofisiología de plantas, especialmente de epífitas vasculares, ya que en general, se ha demostrado que diversos parámetros fisiológicos, tales como, capacidad fotosintética, nitrógeno foliar y distribución de biomasa, incrementan linealmente con éste (Schmidt *et al.* 2001, Zotz 2001). Por ejemplo, estudios de campo para la bromelia epífita C₃, *Vriesea sanguinolenta* y la orquídea *Dimerandra emarginata* en la región central de Panamá, revelaron un aumento de las tasas de fotosíntesis netas en función del tamaño de la planta (Zotz 1997, Schmidt y Zotz 2001).

Algunos autores, han propuesto que las ventajas fisiológicas de las plantas grandes se derivan de la presencia de estructuras de almacenamiento con mayor capacidad de soportar largos períodos sin reabastecerse de agua; además, la duración de la absorción neta de CO₂ se espera que sea más corta en las plantas pequeñas, debido a un agotamiento rápido de depósitos de agua exteriores (Silvera *et al.* 2005, Herrera 2009). De manera similar, ocurre con *V. planifolia*, pues las plantas grandes presentan un tamaño celular y succulencia de la hoja incrementados (Nelson y Sage 2005), en los que podrían almacenar muchas más provisiones de agua y nutrientes para las procesos funcionales. Esta situación concuerda con lo reportado por Hernández-Apolinar (1997), para cultivos de vainilla en climas subtropicales.

Los resultados demuestran el marcado efecto del tamaño inicial de la planta, no solo sobre el crecimiento vegetativo sino también sobre su mortalidad (Figuras 3 y 4). El factor diferenciador en la ocurrencia de dichos eventos, es el tamaño de la planta. Mientras mayor fue la frecuencia en la categoría de plantas pequeñas se observó mayor número de registros de crecimientos iguales a cero y/o muerte. El comportamiento de las plantas antes de morir a lo largo de las mediciones biométricas, en general fue pérdida de hojas, bajos crecimientos y posteriormente mortalidad (observaciones de campo). Probablemente, por la baja habilidad de las plantas pequeñas para soportar condiciones extremas, tales como sequía por varios días propio, propias de ecosistemas secos. Resultados análogos se reportan para bosques naturales con algún grado de intervención, donde la competencia por recursos es mayor; allí la mortalidad de los individuos de menor porte aumenta (Weiner y Thomas 1992, Vega y Sadras 2003, Kikuzawa 1999, Deng *et al* 2012).

Respuestas funcionales

En cuanto a las variables fisiológicas, microambientes menos iluminados (*i.e.* plantas que crecieron bajo el árbol tutor *B. orellana* a densidad alta) propiciaron respuestas fotosintéticas menores, reflejadas en valores medios menores de acidez titulable y fluorescencia de la clorofila (Figuras 5, 6, 7c8c), que se expresaron en tasas menores de crecimiento en longitud (Figura 2). La especie de árbol tutor fue determinante en la acumulación nocturna de ácidos en los tejidos. El ambiente que se creó bajo *G. sepium* favoreció la acumulación nocturna de ácidos debido probablemente a los ambientes intermedios de iluminación, similares a lo reportado para otras plantas CAM epifitas (bromeliáceas y cactáceas) y tolerantes a la sombra como en, entre los que destacan las

poblaciones naturales de la bromelia *Thillandsia brachycaulos* (Cervantes *et al* 2005), bajo condiciones de invernadero para la orquídea *Dendrobium* cv Burdana Jade (He y Teo 2008) y en las primeras etapas de una plantación comercial de la cactácea *Hylocereus undatus* (Andrade *et al* 2007); además, teniendo en cuenta que bajo nuestra investigación, los porcentajes de iluminación no superaron el 20% (Tabla 1.), parece que la radiación óptima para el desarrollo de la vainilla no es tan alta como lo sugiere Puthur (2005), quien concluyó que esta especie requiere niveles de cobertura cercanos al 50% en cultivos de vainilla comercial en la India.

Puesto que las plantas de vainilla registran promedios de F_v/F_m por encima de 0.79 (Figura 6) se puede afirmar que no presentan daño fotoquímico (Henriques 2009, Maxwell y Johnson 2000). Los valores del desempeño del fotosistema II aunque no fueron estadísticamente significativos siguen la misma tendencia de los resultados de acidez titulable. Estos resultados de las variables fisiológicas pueden estar afectados por las diferencias en radiación fotosintéticamente activa recibida entre los tratamientos, la cual fue relativamente baja ($22.45 \mu\text{moles m}^2 \text{días}^{-1}$) para el tratamiento más oscuro y 5 veces superior ($112.61 \mu\text{moles m}^2 \text{día}^{-1}$) para el tratamiento más iluminado (Tabla 4); de manera similar a lo que encontraron Aguilar-Dorantes (2009), Mickel y Smith (2004) para el helecho tolerante a la sombra *Polypodium rhodopleuron*. Las diferencias en el factor presupuesto de radiación entre ellas explicarían las diferencias en la capacidad de realizar la fotosíntesis y por ende en el crecimiento.

Conclusiones

Con base en los resultados se puede concluir que la especie de árbol tutor y la densidad de siembra, son determinantes para el crecimiento de *V. planifolia*, debido a que dichas combinaciones generan microclimas que influyeron en los resultados fisiológicos y de dinámica (crecimiento y mortalidad). Este resultado experimental podría desencadenar una propuesta práctica para los pequeños cultivadores de vainilla en sistemas agroforestales: especies de tutores con hojas pequeñas, ramas dispersas y copas permeables como matarratón, pueden sembrarse a densidades altas (*i.e.* 2.5 x 2.0 m), pues este tipo de arquitectura de dosel, produce ambientes iluminados, con altas temperaturas y bajas humedades relativas, lo cual es aún más marcado si la especie de tutor es caducifolia. En contraposición, las especies con follajes densos y copas compactas, como el achiote, deben sembrarse a densidades bajas (distancias mayores a 2.5 x 4.0 m), con el objeto de evitar sombra excesiva, y propiciar mayor temperatura y menor humedad relativa.

El tamaño del esqueje es fundamental para el óptimo crecimiento y desarrollo de las plantas de *V. planifolia*. Este factor no sólo influye sobre el crecimiento vegetativo sino también sobre su posterior desempeño a nivel reproductivo (las plantas grandes alcanzan rápidamente el estado reproductivo).

Agradecimientos

Los autores desean expresar sus agradecimientos al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, por su apoyo mediante el proyecto “Manejo integral del cultivo de vainilla en arreglos agroforestales bajo condiciones contrastantes en Colombia” (MADR2008V61513704); a las entidades participantes y al equipo técnico y científico del citado proyecto; a COLCIENCIAS (Programa Jóvenes Investigadores e Innovadores) y a la Dirección de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín (DIME).

Bibliografía

Agruilar- Dorantes M. 2009. Ecofisiología de tres helechos epífitos del bosque mesófilo de montaña con diferentes preferencias de microhábitats. Tesis de maestría en ciencias ecología. Universidad Veracruzana. Instituto de ecología. Xalapa, México.

Andrade JL y Nobel PS. 1996. Habitat, CO₂ uptake and growth for de CAM epiphytic cactus *Epiphyllum phyllanthus* in a Panamian tropical forest. *J. Trop. Ecol.* 12:291-306.

Andrade JL., de la Barrera E., Reyes García C, Ricalde MF, Vargas Soto G, Cervera JC 2007. El metabolismo ácido de las crasuláceas: diversidad, fisiología ambiental y productividad. *Bol. Soc. Bot. Mex.* 81, 37-50.

Anilkumar AS. 2004. Vanilla cultivation a profitable agrid-based Enterprise. Keralla calling pp. 26-29.

Arditti, J. 1982. *Orquid biology - Reviews and perspectives, II.* Cornell University Express Press. United Kingdom, London.

Arellano M, Valera D, Urrestarazu M, Garcia S, Sanchez A, Ruiz J. 2006. Estudio del microclima en dos subtipos de invernadero almería. *Agricultura técnica en México*, mayo-agosto vol. 32, número 002. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y pecuarias. Texcoco, México. pp. 225-234.

Azcón-Bieto J y Talón M. 2008. *Fundamentos de fisiología vegetal.* Segunda edición. McGraw Hill interamericana. Barcelona, España. pp. 651.

Berlyn G, Cho J. 2000. Ligth, moisture, and nutrient use by plants. En: Ashton M., Montagnini F. (Editores). *The silvicultural basis for agroforestry systems.* Boca Raton (Florida), EE.UU. Ed. CRC.

Bythow JD. 2008. Vanilla as a medicinal plant. *Semin Integr Med* 3:129-131.

Cervantes S, Graham E, Andrade JL. 2005. Light microhabitats, growth and photosynthesis of an epiphytic bromeliad in a tropical dry forest. *Plant Ecology* 179; 107-118.

Chen J, Saunders S, Crow T, Naiman R, Brosofske K, Mroz G, Brookshire B, Franklin R. 1999. Microclimate in Forest Ecosystem and Landscape Ecology. *Bioscience.* Vol. 49(4): 288-297.

Chesney P y Vásquez N. 2007. Dynamics of non-structural carbohydrate reserves in pruned *Erythrina poeppigiana* and *Gliricidia sepium* trees. *Agroforest Syst* (2007) 69:89–105

Colley D, Payne R, Elswijk M. 2000. Microclimate gradients across a forest Edge. *New Zealand Journal of Ecology* 24(2):111-121.

Damiron R. 2004. La Vainilla y su cultivo. Veracruz Agrícola. Dirección General de Agricultura y Fitosanitaria, Gobierno del Estado. 50 p.

De las Rivas J. 2008. Utilización de energía luminosa en la fotosíntesis. En: Azcón-Bieto, J. y Talón M (Editores). 2^{da}. Edición. *Fundamentos de fisiología vegetal*. pp. 191-209. Ed. Mc Graw Hill.

Deng J, Zuo W, Wang Z, Fan Z, Ji M, Wang G, Ran J, Zhao Z, Liu J, Niklas K, Hammond H y Brown J. Insights into plant size-density relationships from models and agricultural crops. *PNAS*, abril 2012.

Foroughbakhch F, Alvarado-Vázquez M A, Hernández-Piñero J.L, Rocha-Estrada A. Guzmán-Lucio M.A, Treviño-Garza E.J. 2006. Establishment, growth and biomass production of 10 tree woody species introduced for reforestation and ecological restoration in northeastern Mexico. *Forest Ecology and Management* 235: 194–201.

Fu CF, Hew CS. 1982. Crassulacean Acid Metabolism in Orchids under water stress. *Botanical Gazette*. 143, (3) 294-297.

Garnier E, Shipley B, Roumet C, Laurent C. 2001. A standardized protocol for the determination of specific leaf area and leaf dry matter content. *Functional Ecology* 15, 688–695.

Gehrig H, Faist K, Kluge M. 1998. Identification of phosphoenolpyruvate carboxylase isoforms in leaf, stem and roots of the obligate CAM plant *Vanilla planifolia* Salib. (Orchidaceae): a physiological and molecular approach. *Plant Molecular Biology*. 38, 1215–1223.

Griffiths H, Maxwell K. 1999. In memory of C.S. Pittendrigh: Does exposure in forest canopies relate to photoprotective strategies in epiphytic bromeliads. *Functional ecology*, Vol. 13 No. 1: 15-23

He J y Teo LCD. 2008. Susceptibility of Green leaves and Green flower petals of CAM orchid *Dendrobium* cv. Burana Jade to high irradiance under natural tropical conditions. *Photosynthetica* 45 (2): 214-221.

Henriques F. 2009. Leaf chlorophyll fluorescence: Background and fundamentals for plant biologists. *Bot. Rev.* 75:249-270.

Hernández-Apolinar M. 1997. Crecimiento y reproducción de *Vanilla planifolia* (Orchidaceae) en Usila, Oaxaca. Tesis de maestría en ciencias, UNAM, 105 pp.

Hernández J, Lubinsky P. 2010. Cultivation systems. En: Odoux E., Grisoni Michel (Editores) volumen 47, Vanilla. Medicinal and aromatics plants – industrial profiles. pp 75-95. Boca Raton (Florida), EE.UU. Taylor and Francis Group.

Herrera A. 2009. Crassulacean acid metabolism and fitness under water deficit stress: if not for carbon gain, what is facultative CAM good for?. *Annals of Botany* 103: 645-653

Hogan K, Machado JL. 2002. La luz solar consecuencias biológicas y medición. En: Guariguata, M y Kattan G. (Editores) 1a. ed., *Ecología y conservación de bosques neotropicales*. pp. 119-143. Cartago, Costa Rica: Editorial Tecnológica de Costa Rica.

Holdridge L. 2000. *Ecología basada en zonas de vida*. Instituto interamericano de cooperación para la agricultura. Quinta reimpresión. San José, Costa Rica, 216 p.

Householder JE. 2007. Diversity, natural history and conservation of vanilla of Madre de Dios, Peru. Texas Christian University. 116 p.

Hsu BD. 2007. On the possibility of using a chlorophyll fluorescence parameter as an indirect indicator for the growth of *Phalaenopsis* seedlings. *Plant science* 172: 604-608

Kikuzawa K. 1999. Theoretical Relationships Between Mean Plant Size, Size Distribution and Self Thinning under One-sided Competition. *Ann Bot* 83:11-18.

Lambers H, Chapin III S, Pons T. 1998. *Plant physiological ecology*. Ed. Springer-Verlag New York, Inc.

Lubinsky P, Van Dam M, Van Dam A. 2006. Pollination of vanilla and evolution in Orchidaceae. *Orchids* 75, 926-929

Lubinsky P, Bory S, Hernández J, Kim SC, Gómez-Pompa A. 2008. Origins and Dispersal of Cultivated Vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. [Orchidaceae]). *Economic Botany*, 62(2): 127–138.

Lüttge U. 2004. Ecophysiology of crassulacean acid metabolism (CAM). *Annals of Botany* 93: 629 - 652.

Maxwell K y Johnson G N. 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany* Vol. 51, No. 345, pp. 659-668.

Mcgregor A. 2005. Diversification into high-value export products: Case study of Papua New Guinea Vanilla Industry. Agricultural management and finance service (AGSF). Food and Agriculture Organization of The United Nations (FAO). Working document 2. Agricultural Supports. Rome. 40 p.

Mickel JT., Smith AR. 2004. *The Pteridophytas in México*. New York Botanical Garden Press, New York. USA. pp 1054

Nelson N, Sage R. 2005. Functional leaf anatomy of plants with crassulacean acid metabolism. *Functional Plant Biology*. 32, 409-419.

Nelson, N y Yocum CF. 2006. The structure and function of photosystems I and II. *Ann. Rev. Plant Biol.* 57, 521-565

Olivares Soto, HM. 2010. Sombra artificial y aplicación del thiazurón en el crecimiento y fisiología de la vainilla (*Vanilla planifolia* Andrews). Tesis de posgrados en recursos genéticos y productividad. Instituto de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. Monticillo, Mexico.

Porras-Alfaro A., Bayman P. 2007. Mycorrhizal fungi of Vanilla: diversity, specificity and effects on seed germination and plant growth. *MYCOLOGIA*. 99(4):510-525.

Puthur J. 2005. Influence of light intensity on growth and crop productivity of *Vanilla planifolia* Andrews. *Gen. appl. plant physiology*, 31(3-4), 215-224.

Ramírez C, Rapidel B, Matthey J. 1999. Principales factores agronómicos restrictivos en el cultivo de la vainilla y su alivio en la zona de Quepos, Costa Rico. XI Congreso Nacional Agronómico. pp. 309 –313.

Ranadive A. 2003. Vanilla cultivation. En: *Vanilla 1 st. International Congress*. East Brunswick, NJ 08816. pp. 25 – 32.

Vega, C., y V. O. Sadras. 2003. Size-Dependent Growth and the Development Of Inequality in Maize, Sunflower and Soybean. *Ann Bot* 91:795-805.

Schmidt G, Stuntz S, Zotz G. 2001. Plant size-an ignored parameter en epiphyte ecophysiology. *Plant Ecology* 153, 65-72

Schmidt, Zotz G. 2001. Ecophysiological consequences of differences in plant size: in situ carbon gain and water relations of the epiphytic bromeliad, *Vriesea sanguinolenta*. *Plant, Cell an environment* 24, 101-111.

Silvera K, Santiago LS, Winter K. 2005. Distribution of crassulacean acid metabolism in orchids of Panama: Evidence of selection for weak and strong modes. *Functional Plant Biology* 32, 397–407

Silvera K, Santiago LS, Cushman JC, Winter, K. 2009. Crassulacean acid metabolism and epiphytism linked to adaptive radiations in the orchidaceae. *Plant Physiology*. 149:1838–1847.

Soto-Arenas MA. 1999. Filogeografía y recursos genéticos de las vainillas de México. Extraído el 10 de abril de 2009 <http://www.conabio.gob.mx>

Soto-Arenas, MA, y Cribb, P. 2010. A new infrageneric classification and synopsis of the genus *vanilla* plum.ex. mill. (orchidaceae: vanillinae). *Lankesteriana* 9 (3): 355-398.

Soto-Arenas MA y Dressler R. 2010. A revision of the mexican and central american species of *vanilla* plumier ex miller with a characterization of their it region of the nuclear ribosomal DNA. *Lankesteriana* 9(3): 285-354.

Stancato GC, Mazzafera P, Buckeridge MS. 2002. Effects of light stress on the growth of the epiphytic orchid *Cattleya forbesii* Lindl. X *Laelia tenebrosa* Rolfe. *Revista Brasil. Bot.* 25(2), 229-235.

Ting, I. 1985. Crassulacean Acid Metabolism. *Annu. Rev. Plant. Physiol* 36:595-622.

Valladares, F. 2006. La disponibilidad de luz bajo el dosel de los bosques y matorrales ibéricos estimada mediante fotografía hemisférica. *Ecología*, N.o20, 2006, pp. 11-30.

Vásquez C, Batís AI, Alcócer MI, Gual M, y Sánchez C. 2003. Árboles y arbustos nativos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. Conabio, México D.F., México.

Weiner J, y Thomas SC. 1992. Competition and Allometry in Three Species of Annual Plants. *Ecology* 73:648-656.

Zhang N Y, Dao XS y Li CX. 1993. Photosynthesis, growth and development in *Vanilla fragrans* cultivated in different shade densities. *Acta Botanica Yunnanica* 15, 71-7.

Zotz G.1997. Photosyntetic capacity increases with plant size. *Botanica Acta* 110: 306-308

Zotz G. 2001. Small plants, large plants: the importance of plant size for the physiological ecology of vascular epiphytes. *Journal of experimental botany*. Vol, 52, No. 363, pp.2051-2056

Zotz y Andrade 2002. La ecología y la fisiología de las epífitas y las hemiepífitas. En: Guariguata, M y Kattan G. (Editores) 1a. ed., *Ecología y conservación de bosques neotropicales*. pp. 271-296. Cartago, Costa Rica: Editorial Tecnológica de Costa Rica.

Tabla 1. Variables ambientales registradas en los diferentes arreglos agroforestales donde se sembró *V. planifolia*. Bo-A: árboles tutores de sistema bajo tutores de *B. orellana* a densidad de siembra alta, Bo-M: *B. orellana* a densidad de siembra media, Gs-A: árboles tutores de *G. sepium* a densidad de siembra alta, y Gs-M: *G. sepium* a densidad de siembra media. FSD: factor de sitio directo, FSI: factor de sitio indirecto, IAF: índice de área foliar, FSG: factor de sitio global, AD: apertura del dosel, PAR: radiación fotosintéticamente activa, y Es: error estándar. IR: iluminación relativa en cada uno de los tratamientos. El error estándar de los valores promedios se encuentra en paréntesis.

VARIABLES		TRATAMIENTOS				CORRELACIONES	
		Bo-A	Bo-M	Gs-A	Gs-M	R ²	P
TEMPERATURA DIARIA	Máxima	30.03	30.74	32.48	31.96	0,79	0,21
	Mínima	22.06	21.94	21.76	22.01	-0,31	0,69
	Promedio	24.83(0.23)	25.09(0.23)	25.52(0.35)	25.43(0.24)	0,85	0,15
HUMEDAD RELATIVA	Máxima	98.67	98.65	97.04	96.74	-0,8	0,2
	Mínima	62.73	78.61	70.30	67.60	0,36	0,64
	Promedio	92.15(0.97)	88.78(1.14)	88.06(0.81)	86.86(1.30)	-0,99	0,01*
ÍNDICES LUMÍNICOS	FSD	0.038(0.004)	0.088(0.004)	0.153(0.004)	0.187(0.004)	0,94	0,05
	FSI	0.031(0.004)	0.089(0.004)	0.154(0.004)	0.171(0.004)	0,94	0,06
	FSG	0.037(0.03)	0.087(0.03)	0.153(0.091)	0.185(0.079)	0,94	0,05
	IAF	4.310(0.004)	2.609(0.004)	2.239(0.004)	1.968(0.004)	-0,96	0,03*
	AD	0.025(0.004)	0.071(0.004)	0.127(0.004)	0.133(0.004)	0,92	0,08
	PAR μmoles m ² s ⁻¹	22.45	53.36	92.79	112.61	0,94	0,05
	IR(%)	3.6	8.8	15.28	18.55		

*Calculado a partir de FSG y la radiación fotosintéticamente activa promedio diaria durante 24 días.

**Diferencias estadísticamente significativas

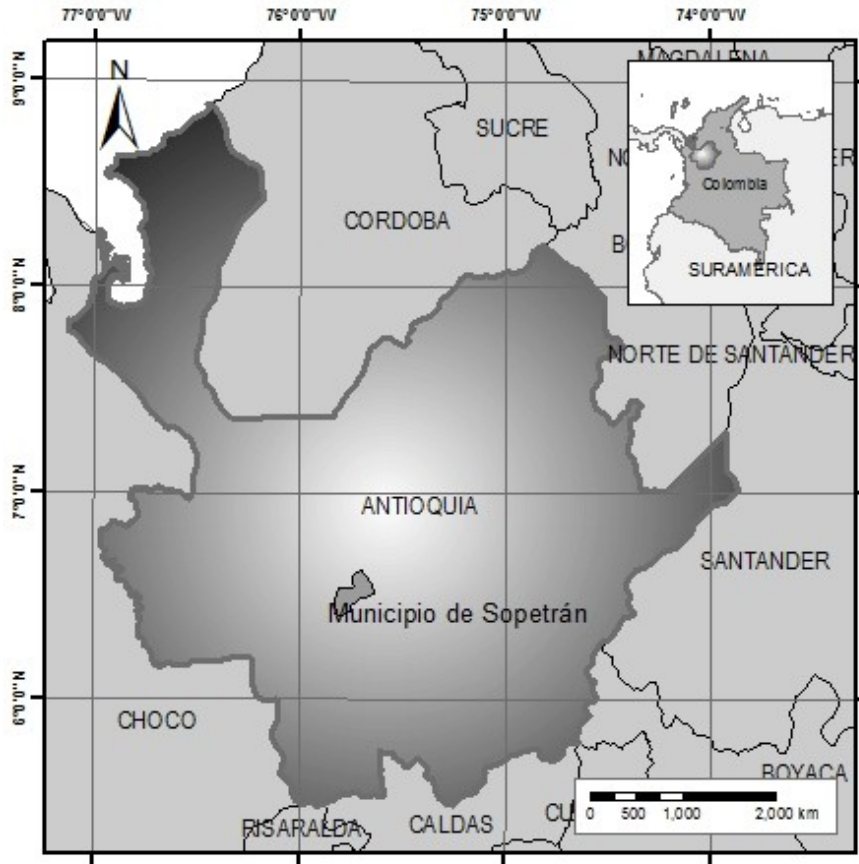


Figura 1. Ubicación general del área de estudio.



B

Figura 2. Efectos principales de las variables: A) Especie de árbol tutor (Bo: *B. orellana*, Gs: *G. sepium*), B) Densidad de siembra (A: alta, M: media), covariable tamaño de planta: 1 pequeñas (< 20 cm de longitud), 2 medianas (21-41 cm) y 3 grandes (> 42 cm) sobre logaritmo del crecimiento medio mensual en longitud. Las barras verticales representan intervalos de confianza al 95%.

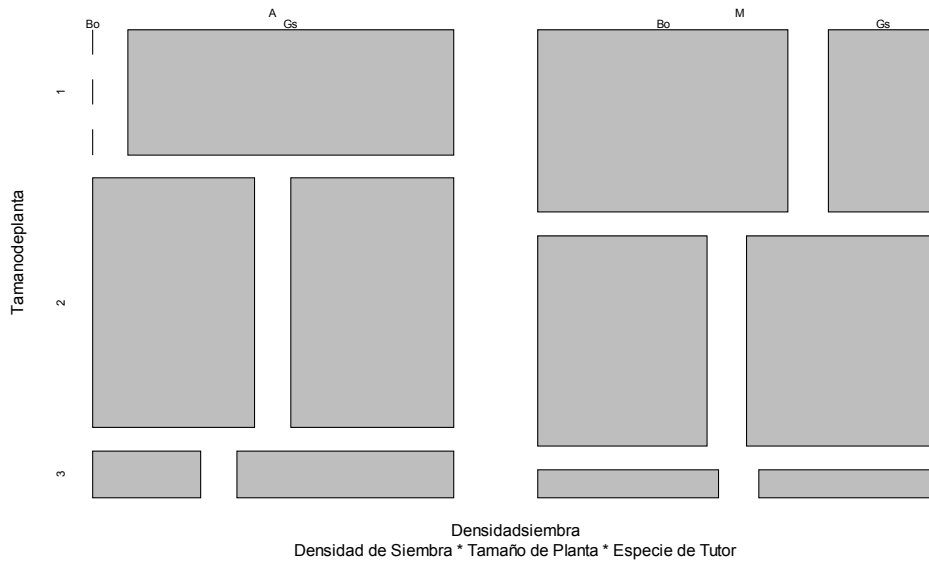


Figura 3. Frecuencias relativas por factor para las tablas de contingencia de crecimiento medio mensual igual a cero de plantas de *V. planifolia*. Tamaño de planta*Especie de árbol tutor*Densidad de siembra. Tamaño de planta: 1 pequeñas (< 20 cm de longitud), 2 medianas (21-41 cm de longitud) y 3 grandes (> 42 cm de longitud). Especie de árbol tutor: Bo: *B. orellana* y Gs: *G. sepium*. Densidad de siembra: A:alta y M: media. El tamaño del cuadro indica la probabilidad de presentar crecimiento medio mensual igual a cero.

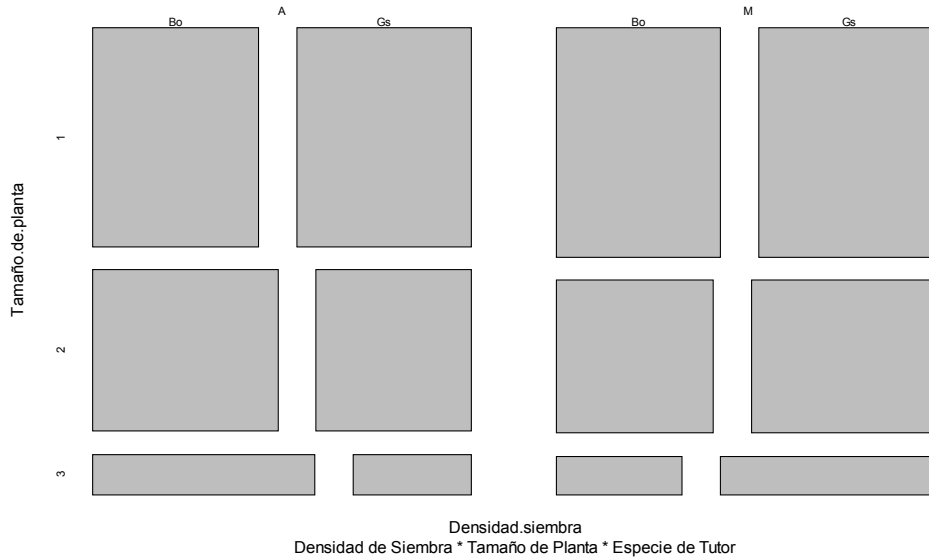
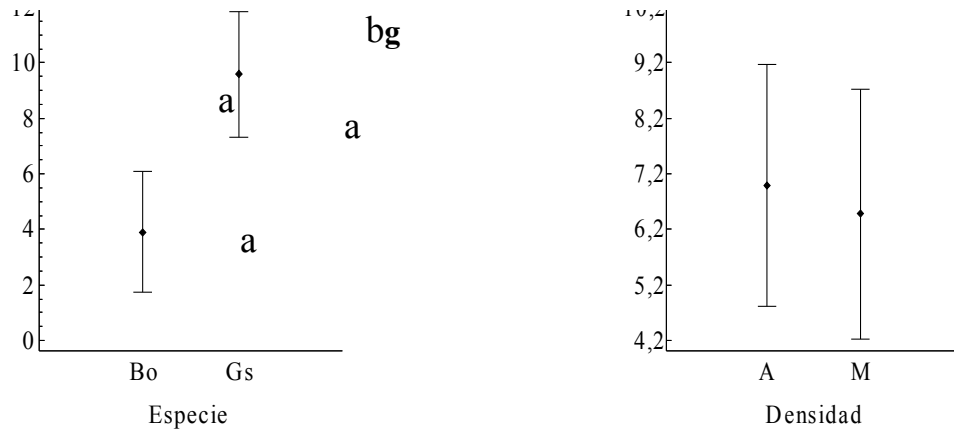
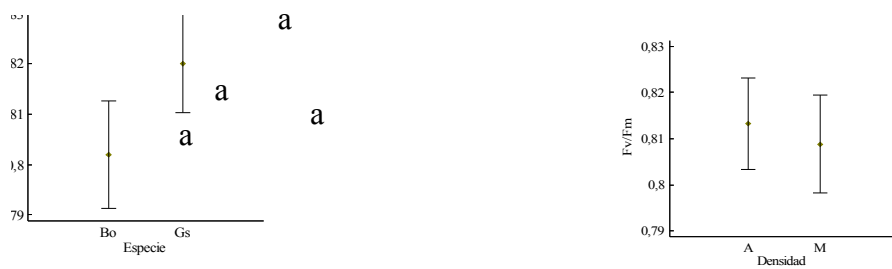


Figura 4. Frecuencias relativas por factor para las tablas de contingencia de mortalidad *V. planifolia*: Tamaño de planta x Especie de árbol tutor x Densidad de siembra. Tamaño de planta: 1 pequeñas (< 20 cm de longitud), 2 medianas (21-41 cm de longitud) y 3 grandes (> 42 cm de longitud). Especie de árbol tutor: Bo: *B. orellana* y Gs: *G. sepium*. Densidad de siembra: A: alta y M: media. El tamaño del cuadro indica la probabilidad de presentar mortalidad.



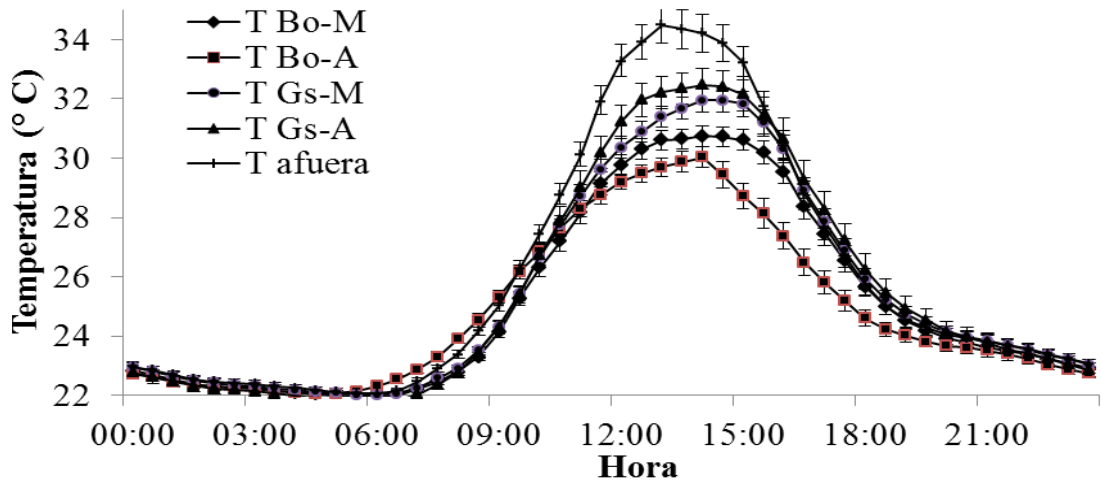
BA

Figura 5. Efectos principales de las variables: A) Especie de tutor (Bo: *B. orellana*, Gs: *G. sepium*) B) Densidad de siembra (A: alta, M: media) sobre la acidez tisular neta (mmol H⁺ m⁻²). Las barras verticales representan intervalos de confianza al 95%.

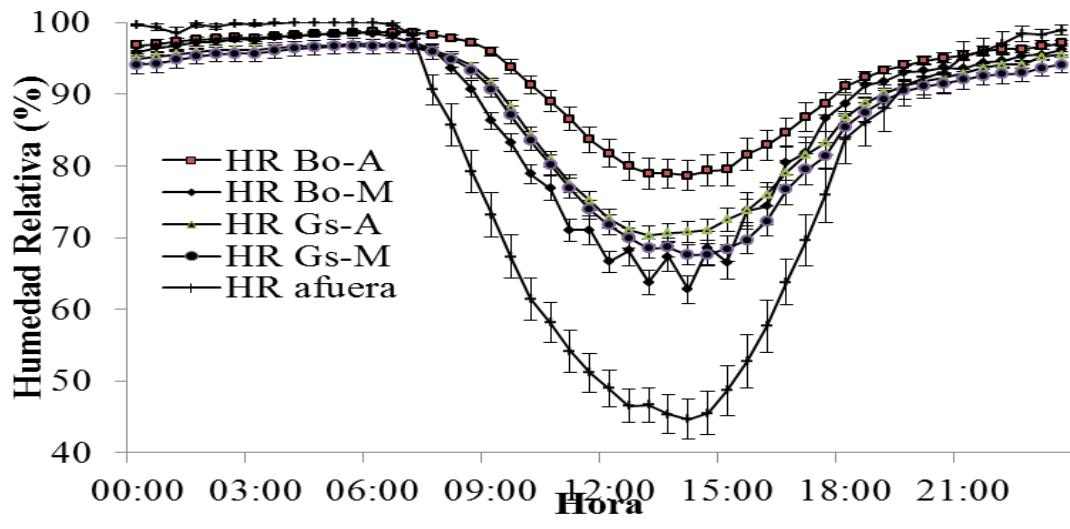


A

Figura 6. Efectos principales de las variables: A) Especie de tutor (Bo: *B. orellana*, Gs: *G. sepium*) y B) Densidad de siembra (A:alta, M: media) sobre la flourescencia de la clorofila (F_v/F_m). Las barras verticales representan intervalos de confianza al 95%.



A



B

Figura 7. Curso promedio diario de la temperatura (A) y la humedad relativa (B) a campo abierto (afuera) y en el interior de plantaciones de *V. planifolia* que crecen bajo árboles tutores de *B. Orellana* (Bo) y *G. sepium* (Gs), y en dos densidades de siembra: alta (A) y media (M). Las barras verticales indican el error estándar.

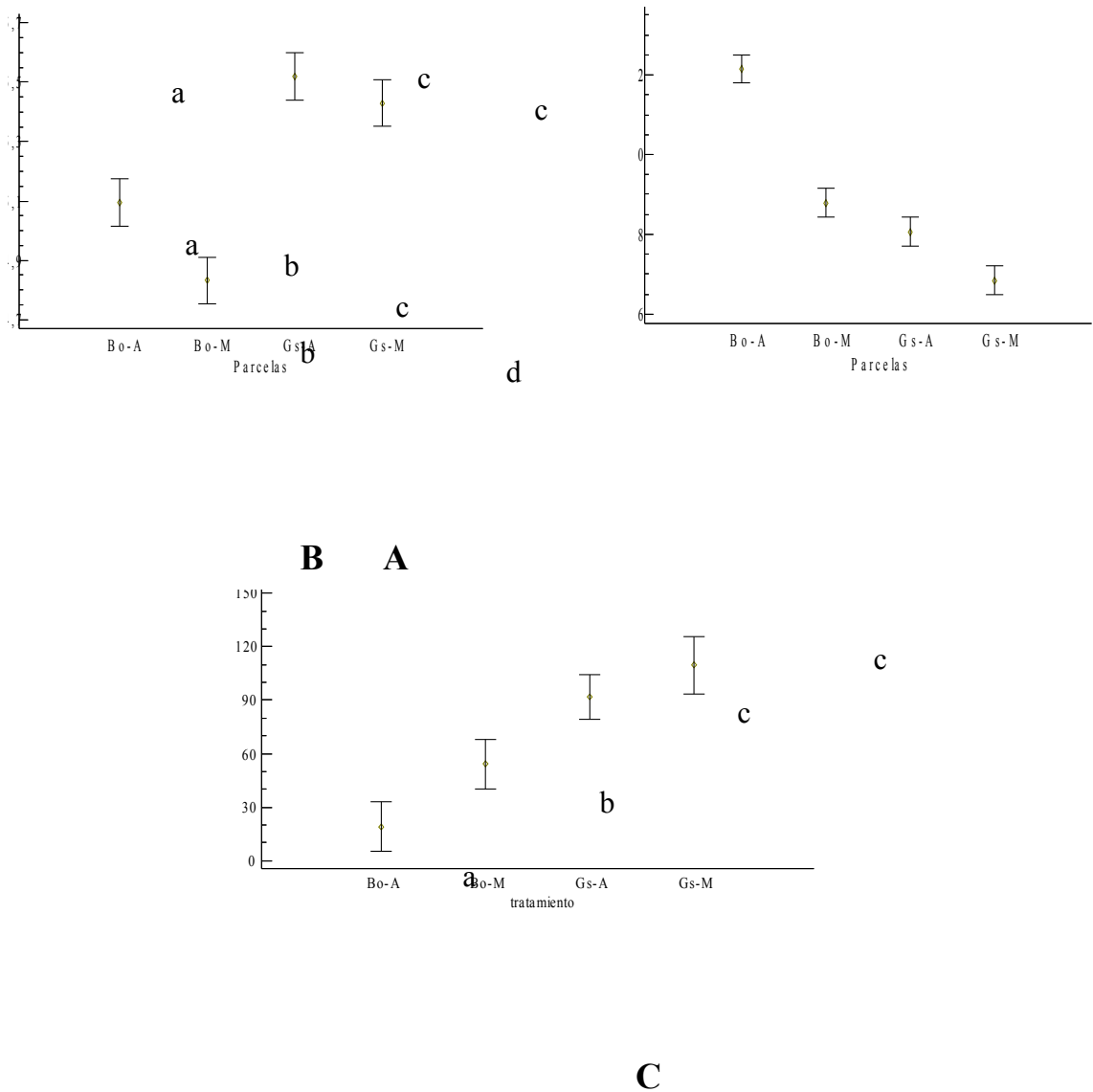
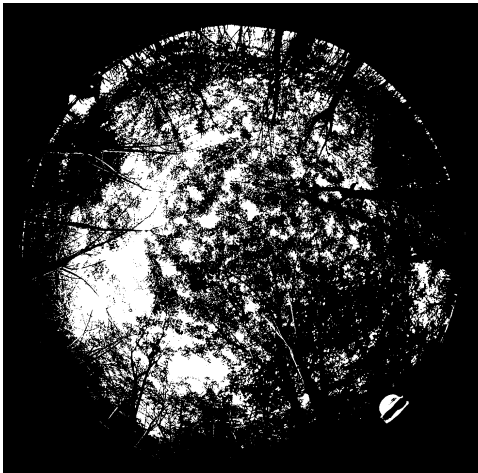
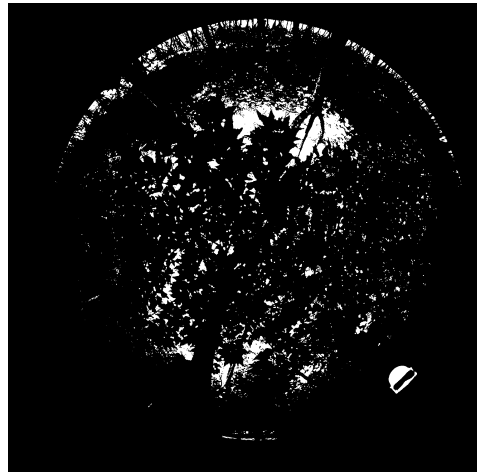


Figura 8. Comparación de medias para las variables microclimáticas entre tratamientos: A) Temperatura (°C), B) Humedad relativa (%), y C) PAR ($\mu\text{moles m}^{-2}\text{s}^{-1}$); en los diferentes arreglos agroforestales donde se sembró *V. planifolia*. Bo-A: árboles tutores de *B. orellana* a densidad de siembra alta, Bo-M: *B. orellana* a densidad de siembra media, Gs-A: árboles tutores de *G. sepium* a densidad de siembra alta, y Gs-M: *G. sepium* a densidad de siembra media. Las barras verticales indican los límites de confianza al 95%.



A



B

Figura 9. Fotografías hemiesféricas de microclimas contrastantes. A. Corresponde al tratamiento G. sepium a densidad de siembra media. B. Corresponde al tratamiento B. orellana a densidad de siembra alta.

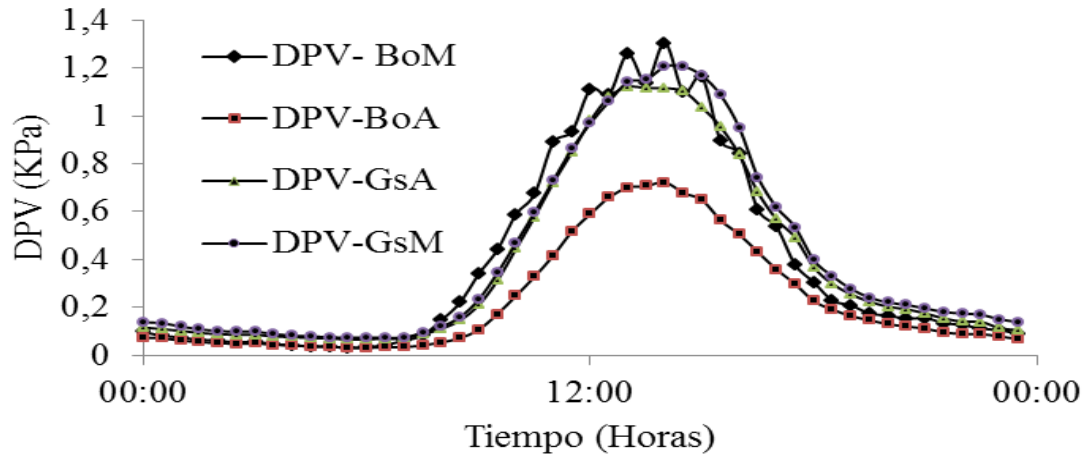


Figura 10. Curso promedio diario de la temperatura del déficit de presión de vapor en el interior de plantaciones de *V. planifolia* que crecen bajo árboles tutores de *B. Orellana* (Bo) y *G. sepium* (Gs), y en dos densidades de siembra: alta (A) y media (M).

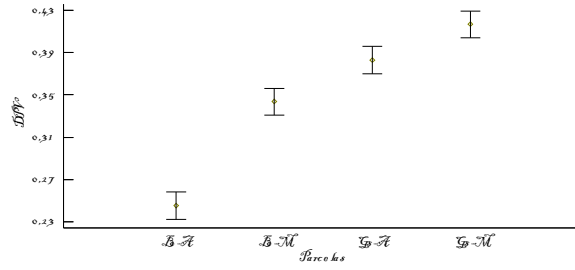
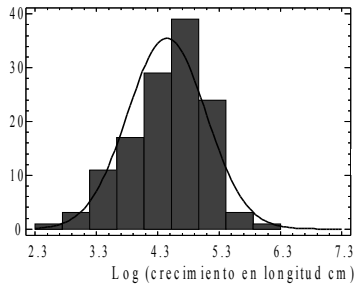
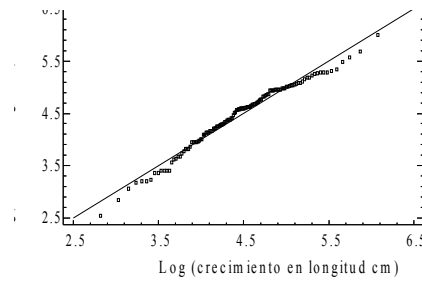


Figura 11. Comparación de medias para la variables déficit de presión de vapor (KPa) en los diferentes arreglos agroforestales donde se sembró *V. planifolia*. Bo-A: árboles tutores de *B. orellana* a densidad de siembra alta, Bo-M: *B. orellana* a densidad de siembra media, Gs-A: árboles tutores de *G. sepium* a densidad de siembra alta, y Gs-M: *G. sepium* a densidad de siembra media. Las barras verticales indican los límites de confianza al 95%.

Anexos



A



B

Anexo A. Supuestos del análisis de varianza. A) Gráfico de histograma de frecuencias y B) Gráfico cuantil-cuantil, muestran la normalidad de la variable.

Anexo B. Análisis de la varianza para plantas *V. planifolia* con crecimiento diferente de cero.

Fuente de variación	gl.	Cuadrado medio	F	P
Covariable				
Tamaño de planta	1, 123	4.646	13.43	0.0004*
Efectos principales				
A: Especie tutor	1, 123	2.845	8.22	0.005*
B: Densidad siembra	1, 123	2.248	6.50	0.012*
Interacciones				
AB	1, 123	0.986	2.85	0.094

*Diferencias estadísticamente significativas

Anexo C. Análisis de la varianza para la acidez titulable de plantas de *V. planifolia*.

Fuente de variación	gl.	Cuadrado medio	F	P
Efectos principales				
A: Especie	1, 27	250.046	13.90	0.0009*
B: Densidad	1, 27	2.06144	0.11	0.7376
Interacciones				
AB	1, 27	1.72707	0.10	0.7591

*Diferencias estadísticamente significativas.

Anexo D.

Análisis de varianza para la fluorescencia de la clorofila (Fv/Fm) de *V. planifolia* bajo dos especies de tutor: *B. orellana* y *G. sepium* y dos densidades de siembra: media (2.5 m x 4.5 m) y alta (2.5 m x 2 m).

Fuente de variación	gl.	Cuadrado Medio	F	P
---------------------	-----	----------------	---	---

Efectos principales				
A: Especie	1, 14	0.001219	2,82	0,0880
B: Densidad	1, 14	0.000072	0,45	0,5173
Interacciones				
AB	1, 14	0.000054	0,34	0,5732

Anexo E. Análisis de varianza para la temperatura

Fuente de variación	gl.	Cuadrado medio	F	P
Efectos principales				
A: Hora	47, 4745	1052.86	544.27	0.0000*
B: Parcelas	3, 4745	119.775	61.92	0.0000*

*Diferencias

estadísticamente significativas.

Anexo F. Análisis de varianza para la humedad relativa

Fuente de variación	gl.	Cuadrado medio	F	P
Efectos principales				
A: Hora	47, 4745	8850.17	224.02	0.0000*
B: Parcelas	3, 4745	6181.16	156.46	0.0000*

*Diferencias estadísticamente significativas

Anexo G. Análisis de varianza para la luminosidad

Fuente de variación	gl.	Cuadrado medio	F	P
Efecto principal				
Parcelas	3, 92	36820.9	31.39	0.0000*

*Diferencias estadísticamente significativas.

Anexo H. Análisis de varianza para el déficit de vapor de presión

Fuente	Gl.	Cuadrado medio	F	P
Efecto principal				
Parcelas	3, 4604	6.62	128.0	0.00*

*Diferencias estadísticamente significativas.