

MANUAL DE PRÁCTICAS DE
FISIOLOGÍA VEGETAL

Víctor Hugo Lallana

María del Carmen Lallana

570	Lallana, Víctor Hugo
CDD	Manual de prácticas de fisiología vegetal / Víctor Hugo Lallana ; María del Carmen Lallana. - 1a ed. 1a reimp. - Paraná : Universidad Nacional de Entre Ríos. UNER, 2017. 226 p. ; 27 x 19 cm. - (Serie Cátedra ; 3)
	ISBN 978-950-698-329-1
	1. Fisiología Vegetal. I. Lallana, María del Carmen II. Título

Primera edición, 300 ejemplares, 2014.

Directora de EDUNER: María Elena Lothringer

Coordinación de la edición: Gustavo Esteban Martínez

Corrección: Ana Lía Pujato

Diseño gráfico: Gabriela Resett

Foto de tapa: *Bletilla striata* en cultivo *in vitro*. Víctor Hugo Lallana, 2012

© LALLANA, Víctor Hugo; LALLANA, María del Carmen

© EDUNER. Editorial de la Universidad Nacional de Entre Ríos

Entre Ríos, Argentina, 2017.

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Resolución C.D. N° 6.794/12

Queda hecho el depósito que marca la ley 11 723.

No se permite la reproducción parcial o total, el almacenamiento, el alquiler, la transmisión o la transformación de este libro, en cualquier forma o por cualquier medio, sea electrónico o mecánico, mediante fotocopias, digitalización u otros métodos, sin el permiso previo y escrito del editor.

Su infracción está penada por las leyes 11 723 y 25 446.

Eva Perón 24, E3260FIB

Concepción del Uruguay, Entre Ríos, Argentina

eduner@uner.edu.ar

Editado e impreso en Argentina

Colección Cátedra

ISBN 978-950-698-329-1

Relaciones hídricas de células y tejidos

A. Plasmólisis y turgencia

B. Medición del potencial hídrico

C. Absorción de agua en relación
con el potencial agua del medio

D. Estomas y transpiración

RELACIONES HÍDRICAS DE CÉLULAS Y TEJIDOS

INTRODUCCIÓN

El agua en las plantas cumple varias funciones: constituyente del citoplasma, que junto con las macromoléculas coloidales determina su estructura y grado de agregación; disolvente de gases, iones y solutos, estableciendo un sistema continuo en toda la planta; participa en algunas reacciones directamente como metabolito (por ejemplo en la reacción de Hill); mantiene la turgencia celular dando la rigidez que normalmente se observa en los órganos herbáceos. Pero lo que en realidad da idea y medida de cómo el agua puede desempeñar estas funciones es su capacidad para realizar trabajo.

El agua que forma parte de cualquier sistema puede hallarse sometida a diversas condiciones de temperatura, presión, interacción con otras sustancias, efecto del campo gravitatorio, etc. Estas condiciones modifican su estado energético, es decir su capacidad de realizar trabajo. Existe un parámetro que expresa esa capacidad: **el potencial agua (Ψ_a ó Ψ_w)**. Es decir que el agua en una célula se halla sometida a la influencia de dos o más de estas condiciones. Por lo tanto la determinación del potencial agua resulta de la suma algebraica de los distintos componentes. Como toda energía potencial, se define en relación con un nivel de energía arbitrario o estado de referencia. En el caso del potencial agua el estado de referencia es el agua pura ($\Psi_w = 0$), a una presión de 1 atmósfera y a una elevación y temperatura (por lo general 25 °C) que pueden especificarse. El potencial agua se puede expresar en atmósferas, bares o J.kg^{-1} . El Ψ_w tiene dimensiones de energía por unidad de masa o volumen (J.kg^{-1}) que es equivalente a las de presión y se expresa en unidades SI, Pascal (Pa): $\text{Pa} = 1 \text{ N m}^{-2} = 1 \text{ Jm}^{-3} = 10^{-5} \text{ bares}$. Los valores en la célula son del orden de megapascals (MPa = 10 bares = 9,87 atm). Para el caso de las plantas, el valor del Ψ_w es negativo. Los componentes del potencial agua y su simbología a nivel celular son:

$$\Psi_a = \Psi_o + \Psi_p + \Psi_m + \Psi_g$$

Ψ_a ó Ψ_w = **potencial agua**

Ψ_o ó π = **potencial osmótico**, representa el potencial derivado de la presencia de solutos (nunca es superior a 0, por lo que toma valores negativos).

Ψ_p ó P = **potencial de presión**, representa la presión ejercida sobre el sistema (mayor a 1 atm.) por la pared celular (puede asumir valores positivos en células turgentes o puede llegar a 0 en células flácidas). Rara vez negativo, cuando el sistema está en tensión o succión.

Ψ_m ó τ = **potencial matricial**, representa los efectos mátricos, adsorción del agua a los coloides de la célula. De importancia en células jóvenes (asume valores negativos) y se hace despreciable en células maduras.

Ψ_g = **potencial gravitacional**, representa la influencia del campo gravitatorio (es de sólo 0,01 MPa.m⁻¹ por lo que puede despreciarse, excepto en árboles de gran altura).

Si separados por una membrana semipermeable colocamos un disolvente puro (por ej. H₂O, y una solución (en el mismo disolvente) de una sustancia que no pase a través de la membrana, observaríamos el pasaje del disolvente puro hacia la solución, con objeto de contrarrestar el desequilibrio generado en ambos medios. Este proceso se denomina ósmosis, y la fuerza que lo produce, presión osmótica. La **presión osmótica** se puede definir como el exceso de presión hidrostática que debe aplicarse a la solución para lograr un potencial hídrico igual al del agua pura. Como no se origina una presión real, a menos que la solución se coloque en un osmómetro, es preferible usar el término «potencial osmótico».

El movimiento del agua se produce desde la zona de mayor (Ψ_a) a la de menor potencial agua (Ψ_a).

Toda célula tiene un determinado y constante Ψ_a , y normalmente se encuentra en un medio isotónico, es decir un medio que tiene igual Ψ_a que el del contenido celular. En este caso el potencial agua es el mismo a través de todo el sistema, es decir en la pared celular, citoplasma, orgánulos y vacuola. Cuando una célula se encuentra en un medio isotónico no sufre modificación alguna, el agua entra y sale de ella en igual proporción.

Sin embargo, dado que la planta pierde o gana agua en forma permanente, los componentes del Ψ_a pueden diferir en los compartimentos celulares. En la vacuola el Ψ_a se debe principalmente a las fuerzas osmóticas y de turgencia; mientras que en la pared a las fuerzas mátricas y en pequeño grado a las osmóticas. En el citoplasma de una célula turgente son importantes tanto el Ψ_o como el Ψ_m y el Ψ_p .

A. PLASMÓLISIS Y TURGENCIA

INTRODUCCIÓN

El fenómeno de plasmólisis se produce cuando un grupo de células ha sido colocado en el interior de una disolución hipertónica (mayor concentración de solutos que el jugo celular); el jugo celular pierde agua y ésta pasa a la disolución que la rodea (**exósmosis**).

Al reducirse el volumen vacuolar por la pérdida de agua disminuye al mismo tiempo la presión de turgencia hasta valores insignificantes, por lo tanto las células pierden turgencia y el contenido protoplasmático (citoplasma y núcleo) se contrae y comienza a separarse de la pared celular. Este proceso se denomina **plasmólisis** (Figura 1).

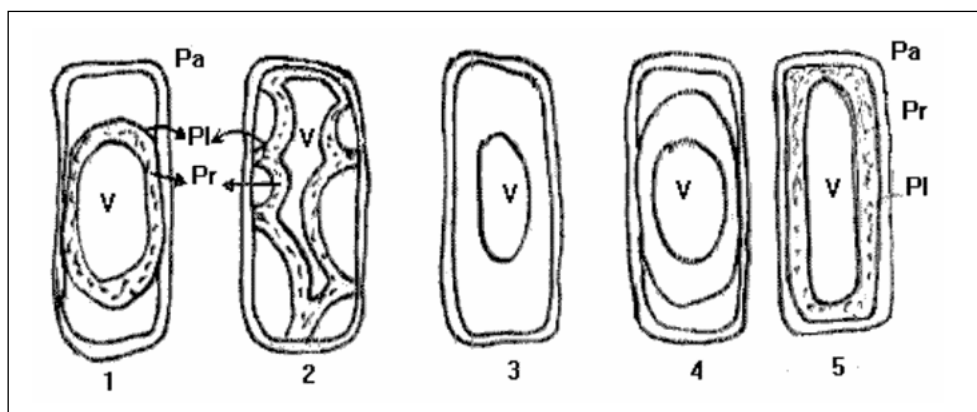


FIGURA 1. Esquema de células plasmolizadas y turgente: v, vacuola; Pa, pared celular; Pl, plasmalema; Pr, protoplasma. Los esquemas 1 a 4 indican distintos tipos de plasmólisis y el 5 la misma célula turgente (adaptado de Sutcliffe, 1984)

A mayor concentración de solutos, mayor presión osmótica. Entonces, cuanto mayor sea la concentración o presión osmótica que tenga la solución que rodea la célula, mayor será el grado de plasmólisis que experimenten dichas células.

Por el contrario, si colocamos la célula en agua pura o en una solución muy diluida (de menor concentración que el jugo celular) habrá difusión neta de agua del medio, que en este caso es hipotónico, hacia la región de mayor concentración de soluto, es decir el interior de la célula (endósmosis). De este modo la célula sufrirá un aumento de volumen, debido a que el agua pasa en mayor proporción desde el medio (hipotónico) hacia el interior de la célula. El proceso continúa hasta que la pared celular (poco elástica) no cede más, y la presión de turgencia alcanza un valor máximo. La célula se encuentra saturada de agua, completamente turgente. Este fenómeno se denomina turgencia.



A. PLASMÓLISIS Y TURGENCIA

El objetivo es observar el fenómeno reversible de plasmólisis.

TÉCNICA OPERATORIA

Coloque algas verdes sobre un portaobjetos o trozos de epidermis de Roheo. Observe el estado de turgencia de las células. Coloque un grupo de algas (o epidermis de Roheo) en una solución de sacarosa y H_2O ; verifique el tiempo necesario para que se produzca la plasmólisis. Sustituya la disolución que causó plasmólisis, por agua de grifo, mojando bien el material vegetal y observe el tiempo necesario para que la plasmólisis desaparezca.

Dibujar lo observado, explicarlo y redactar el informe correspondiente.

[illegible]

B. MEDICIÓN DEL POTENCIAL HÍDRICO

INTRODUCCIÓN

Casi todos los métodos que calculan el potencial hídrico consisten en la determinación de éste en un medio en donde una célula ni absorbe ni pierde agua. Es difícil, aunque no imposible, determinar el potencial hídrico del jugo vacuolar en una planta multicelular intacta y puesto que el potencial puede cambiar de inmediato tras el corte, por ejemplo por la liberación de las tensiones del tejido, evaporación, etc., las medidas que se hacen sobre grupos de células aisladas no son más que groseras aproximaciones de los valores reales in situ.

La absorción o pérdida de agua por los tejidos se puede calcular por los siguientes métodos:

a. Método volumétrico: se basa en la medida de los cambios de las dimensiones lineales de las células cuando éstas se colocan en soluciones de diferente potencial osmótico.

b. Método gravimétrico: se basa en la medida de los cambios de peso que experimentan trozos de tejido al ser colocados en soluciones de distinta concentración de sacarosa u otro soluto apropiado. La solución en que no cambie de peso se considera que tiene un potencial hídrico que corresponde al tejido.

c. Método refractométrico: consiste en sumergir fragmentos de tejidos en soluciones de potencial osmótico variable y determinar mediante un refractómetro la solución en que no hay un cambio de concentración.

d. Métodos de presión de vapor: Psicrómetros. Se basan en el hecho de que la presión de vapor de la atmósfera que circunda un tejido colocado en una cámara cerrada está en equilibrio con el potencial agua del tejido. En dicha cámara se instala una pequeña termocupla. Se utiliza el llamado efecto Peltier para la medición del potencial agua de la atmósfera de la cámara en equilibrio con el tejido. Una débil corriente electrónica enfría la termocupla, determinando la condensación de una pequeña cantidad de agua depositada en ella. Cuando se interrumpe la corriente el agua condensada se evapora de la termocupla con mayor o menor velocidad, según sea la presión de vapor de la atmósfera de la cámara.

El enfriamiento de la termocupla genera una corriente eléctrica que se lee en el microamperímetro. Dicho valor puede ser transformado directamente en lecturas de Ψ_a o en bares o atmósferas, previo calibrado del aparato. El equilibrio se alcanza en unos 15 minutos.

e. Método de presión: Bomba de Scholander. Se basa en determinar la presión que es necesario aplicar a una hoja cortada hasta que aparezca el agua en el extremo seccionado del tallo o pecíolo. Dicha presión equilibra la presión negativa o tensión con la cual el agua estaba retenida en el interior del tallo antes del corte.

f. Método densimétrico: Chardakov. Se basa en encontrar por tanteo una solución cuyo potencial sea igual al potencial agua del tejido. Cuando un tejido se introduce en agua o en una solución se produce un intercambio de agua hasta alcanzar el equilibrio; en ese momento el potencial hídrico del tejido será igual al potencial hídrico de la solución externa. Esto puede medirse apropiadamente utilizando un colorante y observando el movimiento de la gota coloreada. La solución donde no se produce movimiento da el valor del potencial agua del tejido.



B. MEDICIÓN DEL POTENCIAL HÍDRICO

El objetivo de este trabajo práctico será determinar el potencial agua de un tejido por el método gravimétrico-volumétrico y densimétrico.

TÉCNICA OPERATORIA

Colocar dos series de 12 tubos de ensayo cada una, numerarlos y añadir a cada uno 10 mL de la solución de sacarosa correspondiente a su número de acuerdo con lo indicado en la Tabla 1.

TABLA 1. Valores de molaridad y potencial osmótico de las soluciones resultantes (adaptado de Monerri y Guardiola, 1992)

TUBO nº 1	MOLARIDAD DE LA SOLUCIÓN	Ψ_o (atm.)
1	0,05	- 1,3
2	0,15	- 4,0
3	0,25	- 6,7
4	0,30	- 8,1
5	0,35	- 9,6
7	0,45	- 12,7
8	0,50	- 14,3
9	0,55	- 16,0
10	0,65	- 19,6
11	0,75	- 23,4
12	0,85	- 27,6

Con la ayuda de un sacabocados obtener cilindros de tejido de papa, y con la ayuda de cuchillas fijas, cortarlos de la misma longitud. Medir con la ayuda de una lupa, con tolerancia de $\pm 0,1$ mm y pesar con una precisión de 1 mg (hacer estas operaciones rápidamente a fin de evitar pérdidas de agua). Colocar uno de estos cilindros en cada tubo de ensayo.

Al cabo de una hora y media tomar un cilindro de tejido vegetal de uno de los tubos. Secar rápidamente en superficie sobre papel de filtro; pesar de nuevo y medir su longitud. Repetir a continuación con los otros cilindros, teniendo la precaución de dejar las soluciones tapadas y conservarlas para la segunda parte de la práctica.

CHARDAKOV

Tomar una serie de 12 tubos de ensayo, del mismo modo que en la primera parte del trabajo práctico. Añadir en cada caso unos pocos mg de azul de metileno, para que la solución adquiriera un color azul claro.

Los cambios en la densidad de las soluciones utilizadas en el apartado anterior se determinan colocando en el centro de cada tubo, con la ayuda de una micropipeta, una gota de la solución coloreada con azul de metileno del mismo número, es decir de la misma densidad inicial. Observar si la gota asciende, desciende o permanece estacionaria. El potencial hídrico del tejido es igual al potencial osmótico de la solución en el que la gota no se mueve en ningún sentido.

Registre sus datos y redacte el informe correspondiente.

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

- BREVEDAN, R., N. CURVETTO y otros (1996). *Guía de trabajos prácticos de Fisiología vegetal*. Departamento de Agronomía, UNS, Bahía Blanca, 61 p.
- ARGUELLO, J., A. LEDESMA y otros (1992). *Guía de trabajos prácticos de Fisiología vegetal*. Fac. Cs. Agropecuarias, UNC, 99 p.
- MONERRI, C. y J. GUARDIOLA (1992). *Manual de prácticas de Fisiología vegetal*. Dpto. Biología Vegetal, Univ. Politécnica de Valencia, 158 p.
- SÍVORI, E. y otros (1980). *Fisiología vegetal*. Cap. XI, pp. 322-332. Hemisferio Sur, 681 p.
- SUTCLIFFE, J. (1984). *Las plantas y el agua*. Barcelona: Omega, Cuadernos de Biología, 91 p.

[illegible]

C. ABSORCIÓN DE AGUA EN RELACIÓN CON EL POTENCIAL AGUA DEL MEDIO

INTRODUCCIÓN

En condiciones naturales prácticamente toda la absorción de agua por las plantas provistas de raíces tiene lugar a través del sistema radical.

Considerando el sistema suelo-planta-atmósfera, en la mayoría de las condiciones el potencial agua más alto corresponde al suelo (ej. -1 bar) y el más bajo a la atmósfera (aproximadamente -300 bares, con una humedad relativa del 80 % y a 20°C). El agua penetra a la raíz por efecto de un gradiente de potencial agua decreciente desde la solución del suelo hacia las células radicales.

Dado que el agua pura posee un potencial agua máximo igual a cero, cualquier soluto disminuye ese potencial, el cual adquiere valores negativos. Un aumento en la concentración de solutos en las células o una disminución en el potencial de presión produciría una disminución del potencial agua y un aumento en la absorción de agua (corriente transpiratoria.)

Si en la solución del suelo se aumenta la concentración de solutos o desciende en forma considerable la temperatura, puede llegar a desaparecer ese gradiente impidiendo la absorción.

Un valor de potencial agua de -15 bares en el suelo corresponde al llamado punto de marchitez permanente. A medida que el suelo se seca y se aproxima a -15 bares, los valores de potencial agua en la raíz deben hacerse menores que ese valor, de manera de seguir manteniendo un gradiente favorable a la penetración de agua a la raíz. Esto puede ocurrir hasta un punto luego del cual la planta no logra superar el estrés (déficit de agua) por falta de agua y muere. El crecimiento celular es sumamente sensible a la falta de agua. Se ha comprobado que la disminución de un bar en el Ψ_a externo provoca una disminución perceptible en el crecimiento celular.

En niveles altos de estrés ($\Psi_a = -10$ a -20 bares), la respiración, el transporte de fotosintatos y la asimilación de anhídrido carbónico caen a niveles próximos a cero. Agregando agua en este punto, las plantas por lo general se recuperan, aunque el crecimiento y fotosíntesis en las hojas jóvenes quedarán reducidos por varios

días y las hojas viejas pueden caer. Considerando entonces que el crecimiento es particularmente sensible al estrés de agua, el rendimiento de cualquier cultivo puede disminuir en forma notable, aun con sequías moderadas.

Bajo condiciones de estrés hídrico las células son más pequeñas y en general el desarrollo de las hojas es menor, lo que conduce a un área fotosintética reducida. La productividad vegetal está más estrechamente relacionada con la disponibilidad de agua que con cualquier otro factor ambiental. Por ello la falta de agua ha sido estudiada como un factor de estrés. Los ecólogos clasifican las plantas según su respuesta a la disponibilidad de agua en: hidrófitas (crecen donde el agua es muy abundante), mesófitas (crecen donde la disponibilidad de agua es intermedia) y xerófitas (crecen donde el agua disponible es escasa).

Los solutos influyen en gran medida sobre el potencial agua, y basada en ello surge otra clasificación de las plantas en: glicófitas (sensibles a concentraciones de sales relativamente altas) y halófitas (plantas capaces de crecer en presencia de altas concentraciones de sales).

Puede suceder que las raíces de una planta estén sumergidas en una solución acuosa, en íntimo contacto con moléculas de agua y a pesar de ello no absorba agua, debido a un gradiente desfavorable de potencial agua entre las raíces y la solución externa. Este fenómeno suele denominarse sequía fisiológica para diferenciarse de la sequía debida a la ausencia de agua.

Estas condiciones se pueden encontrar en suelos salinos o alcalinos. El potencial agua de suelos agrícolas bien provistos es de aproximadamente $-0,5$ bares o menos. En suelos alcalinos o salinos la concentración de solutos puede ser tan alta que su potencial agua puede disminuir a valores de -100 bares. En las zonas de regadío las sales pueden acumularse en la zona del suelo donde crecen las raíces, dando lugar a la formación de suelos alcalinos producidos por el hombre, lo que es un importante problema agronómico.

Atendiendo a los conceptos expuestos es importante tener en cuenta que se deben evitar fertilizaciones en cultivos que están sufriendo sequía o períodos críticos, como germinación o floración; o bien en cultivos recién trasplantados, donde ha habido rotura de numerosas raicillas.



C. ABSORCIÓN DE AGUA EN RELACIÓN CON EL POTENCIAL AGUA DEL MEDIO

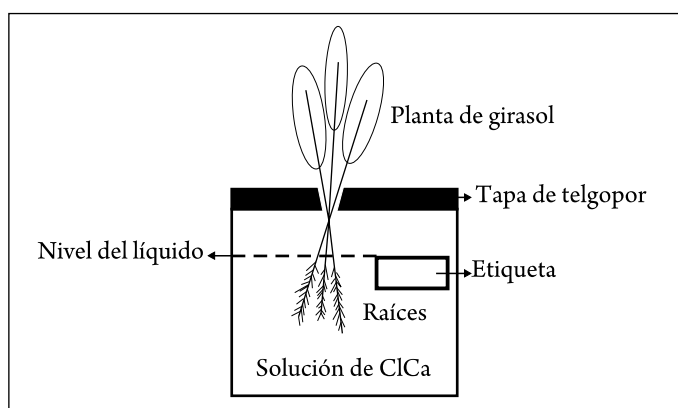
El objetivo es demostrar la absorción diferencial de agua según el Ψ_a del medio y sus efectos sobre el crecimiento de la planta.

TÉCNICA OPERATORIA

A partir de una solución madre de $\text{Cl}_2 \text{ Ca}$ 0,5 M que se le proveerá prepare las diluciones indicadas (0,2; 0,1; 0,05 y 0,02 M) y llene con ellas los respectivos frascos hasta 1 cm por debajo de la rosca.

Identifique cada frasco colocando en la etiqueta la dilución que corresponda, y el grupo o comisión. Fije la etiqueta de tal manera que indique el nivel del líquido. Extraiga con cuidado plantines de girasol con un pan de tierra, lave abundantemente sus raíces, enjuáguelas con agua destilada y colóquelas en el tapón sujetas en la zona del cuello con algodón, cuidando que éste no se moje (para evitar que se evapore el agua de la solución y se formen colonias de hongos).

DISPOSITIVO EXPERIMENTAL



Realice las observaciones en las fechas que se le indican en la planilla de toma de datos adjunta al final del protocolo. Interprete y saque conclusiones.

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

BREVEDAN, R., N. CURVETTO y otros (1996). *Guía de trabajos prácticos de Fisiología vegetal*. Departamento de Agronomía, Univ. Nac. del Sur, Bahía Blanca, 61 p.

SÍVORI, E., E. MONTALDI y O. H. CASO (1980). *Fisiología vegetal*. Cap. XI. pp. 332-345. Hemisferio Sur, 681 p.

[illegible]This image shows a single sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

D. ESTOMAS Y TRANSPIRACIÓN

INTRODUCCIÓN

Transpiración: es el caso especial de evaporación de agua, desde un tejido vivo hacia el exterior. Tal fenómeno puede tener lugar en cualquier parte del vegetal que esté expuesta al aire, pero son las hojas los órganos que lo realizan con mayor intensidad. Las vías de transpiración en la planta son:

1. **Transpiración estomática:** por los estomas; es una vía controlable por la planta y cuantitativamente representa alrededor del 90 % del total de agua perdida.

2. **Transpiración lenticelar:** por las lenticelas.

3. **Transpiración cuticular:** por la cutícula. Estas dos últimas vías no son controladas por la planta y cuantitativamente representan no más del 10 % restante, pero adquieren fundamental importancia cuando los estomas se encuentran cerrados, por ej. por deficiencia de agua. En hojas de plantas xerófitas (típicas de zonas áridas), que tienen una cutícula muy gruesa y a veces cubierta de ceras, la transpiración cuticular con frecuencia no supera el 1 % del agua perdida por los estomas.

La **transpiración estomática** es regulada por los estomas, que se cierran cuando hay un déficit apreciable de agua en la planta y constituyen la vía más importante para el intercambio gaseoso entre el mesófilo y la atmósfera.

El número de estomas por unidad de superficie varía según las especies y las condiciones ambientales en las que se desarrolla la planta, y puede oscilar entre 50 y 500 por mm^2 . Existen plantas con estomas solamente en la cara superior de la hoja: hojas epistomáticas, como algunas acuáticas (hidrófitas) que tienen hojas flotantes; otras tienen estomas a ambos lados de las hojas: anfiestomáticas. Sin embargo son más numerosas las plantas que tienen mayor número de estomas en el envés: hipostomáticas.

Se denomina estoma a la unidad conformada por un poro y las dos células oclusivas que lo rodean. Estas células oclusivas o guardianas se hallan en contacto con las células adyacentes de la epidermis y en muchos casos se ha comprobado la existencia de relaciones metabólicas muy estrechas entre las células oclusivas

y las adyacentes. Los estomas de las Dicotiledóneas (Fig. 1) poseen células oclusivas de forma arriñonada y su distribución en la lámina es al azar. En las Monocotiledóneas, en particular en las Gramíneas, son alargadas y casi paralelas, y se distribuyen en la lámina paralelos a las nervaduras.

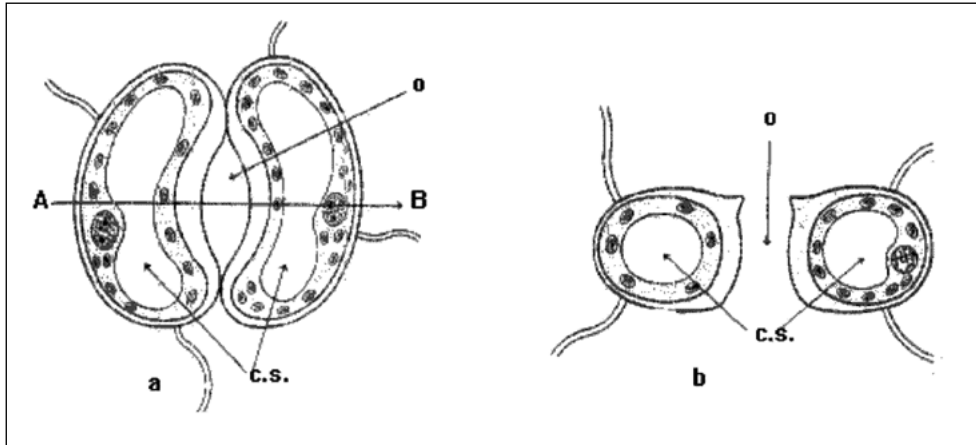


FIGURA 1. Estoma de planta dicotiledónea. a) vista en planta; b) en sección según AB; cs) célula estomática, o) ostiolo (tomado de Mazliak, 1976)

Al aumentar la turgencia celular el poro se abre y al disminuir se cierra. Esto se debe a una característica especial de la anatomía submicroscópica de sus paredes celulares. Las microfibrillas de celulosa que forman esta pared están organizadas alrededor de la circunferencia de las células guardianas, en forma de anillo y radiadas desde un punto en el centro del estoma. Este arreglo se denomina micelación radial.

Aun cuando la superficie ocupada por los estomas es muy baja en relación con el área foliar total (1 % ó menos), su eficiencia difusiva es mucho mayor que si fuese una superficie evaporante libre. Eso se rige por el principio de difusión a través de áreas cribadas, que expresa que la velocidad de difusión es proporcional al perímetro y no al área de los orificios.

El mecanismo de apertura y cierre del poro estomático responde a variaciones de ciertos factores ambientales e internos, en particular la luz, la concentración de CO_2 , el potencial agua de la hoja y la temperatura.

Las plantas adaptadas a ambientes secos (xerófitas) tienen con frecuencia los estomas hundidos en la epidermis o agrupados en cavidades de las hojas, las que a veces poseen una densa cobertura pilosa. Todos estos factores tienden a disminuir en gran medida la pérdida de agua. Por el contrario, las plantas que viven en ambientes húmedos (higrófitas) tienen adaptaciones como estomas elevados, pelos y emergencias vivas, que favorecen la transpiración.

La transpiración presenta una periodicidad diurna relacionada con las condiciones meteorológicas. En general es baja durante la noche, aumenta con rapidez después del amanecer hasta un máximo al final de la mañana o principios de la tarde y luego disminuye en forma gradual hasta la noche.

La transpiración de una planta o una hoja puede variar de un momento a otro, debido a efectos de los factores ambientales que modifican condiciones fisiológicas intrínsecas del vegetal (pH, potencial agua, etc.). Estos factores pueden ser: radiación solar, humedad relativa, temperatura, disponibilidad de agua en el suelo, viento.

Los principales métodos para medir la transpiración son:

a. Pérdida de peso de una planta en una maceta: se calcula pesando una planta y su recipiente, debidamente sellado para evitar la evaporación del suelo, a intervalos de tiempo convenientes. También se puede usar un lisímetro, con el suelo sellado. Considerando que la cantidad de agua utilizada en el crecimiento es menor del 1 % del peso seco final (225 kg de agua por kg de materia seca) se asume que todo cambio en peso en el intervalo de tiempo considerado se debe a la transpiración.

En una balanza de torsión sensible es posible medir la pérdida de peso de una hoja o rama cortada a intervalos de 1 ó 2 minutos. Si el órgano no sufre estrés hídrico, el método da una medida satisfactoria y rápida, pero se cometen serios errores si la planta está sufriendo déficit hídrico o se mide durante períodos mayores a los mencionados.

b. Método de Freeman: la planta o una de sus partes se aísla en un recipiente de cristal, en el que se hace fluir una corriente de aire seco. El vapor de agua se recoge en tubos que contienen pentóxido de fósforo o cloruro de calcio y se pesa. Como testigo se utiliza un aparato similar sólo que en ausencia de la planta. Adolece de serias objeciones dada la artificialidad del sistema que hace cambiar las condiciones experimentales.

c. Potómetro: si se admite que la absorción compensa la pérdida de agua por transpiración, con el potómetro se puede determinar de manera indirecta la intensidad de la pérdida de agua por la planta o vástago cortado, midiendo la tasa de absorción. Consiste en un depósito de agua en el que se introduce una planta o una parte de ella y un tubo capilar de vidrio de diámetro interno conocido, acoplado al depósito (Fig. 2). En el tubo se introduce una burbuja de aire, y la velocidad de movimiento de ésta sobre una escala sirve como indicador de la intensidad de la transpiración. Para disminuir el error se recomienda usar plantas enteras; de todas formas no es un método muy preciso.

d. Porómetro de difusión: con este moderno instrumento electrónico portátil se puede determinar la resistencia que ofrece la epidermis a la difusión de un gas (en este caso, vapor de agua). Consta de un medidor portátil de resistencia eléctrica y un sensor de humedad cuya resistencia varía en forma inversamente proporcional al grado de humedad. Para medir se adosa el sensor a la hoja y se mide con un cronómetro el tiempo que tarda en disminuir la resistencia entre dos valores de una escala. A mayor apertura estomática, más rápido será el cambio ya que disminuye la resistencia. Se calcula así la resistencia estomática (y su inversa la conductancia), conociendo la temperatura de la hoja (medida por el instrumento) y del aire.

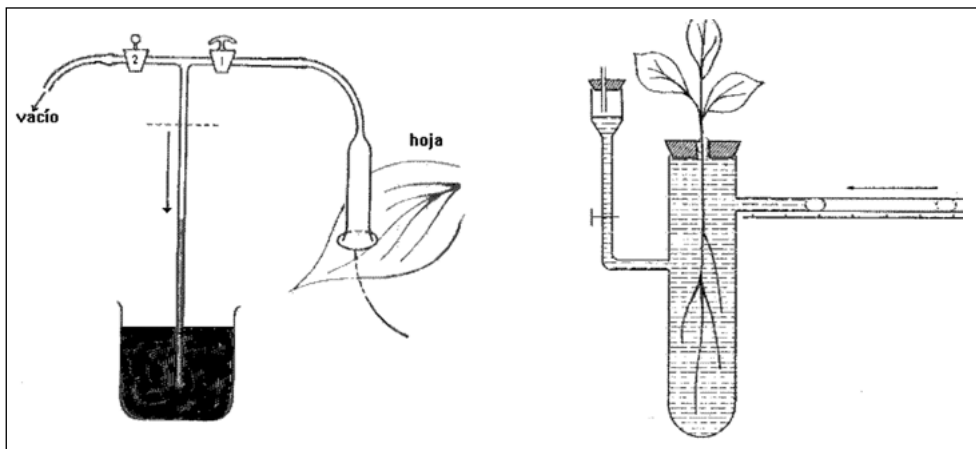


FIGURA 2. La figura de la izquierda muestra el principio básico de medición de un porómetro de difusión. Al principio se aspira el líquido mediante la trompa de vacío cerrando la llave 1 y abriendo la 2. Luego se corta el vacío (cerrando la llave 2) y se abre la 1: el gas se difunde a través de la lámina foliar y hace descender la columna de agua en el tubo. Cuando más rápido descende la columna, más rápidamente difunde el aire, por lo cual los estomas estarán muy abiertos. La figura de la derecha representa un potómetro, que mide la cantidad de agua absorbida por el desplazamiento del menisco de aire en el capilar horizontal (tomado de Mazliak, 1976).

Existen algunos métodos más, pero los mencionados son los más usados.



D. ESTOMAS Y TRANSPIRACIÓN

En el trabajo práctico se determinará la intensidad de la transpiración, por el método de pérdida de peso o gravimétrico.

TÉCNICA OPERATORIA

Se utilizarán plántulas crecidas en pots impermeables de plástico. Se riegan ligeramente y se cubre la parte superior del pote con polietileno (o se embolsa el recipiente y se ata al cuello de la planta). Se pesa y se registra el dato y se colocan en las condiciones que se especifiquen. Luego de un tiempo dado se registra nuevamente el peso. La diferencia entre ambas pesadas se estima que corresponde al agua perdida en la transpiración.

Determine la superficie foliar perfilando las hojas y recortándolas en papel, con base en su peso y el peso de 10 cm² de papel, efectúe el cálculo. Refiera los datos a g de agua/cm² de superficie foliar/tiempo (h). Observe los estomas en un microscopio, dibuje y detalle sus partes. Elabore el informe correspondiente.

LECTURAS COMPLEMENTARIAS

- AZCÓN-BIETO, J. y M. TALÓN (2003). *Fundamentos de Fisiología vegetal*. McGraw-Hill-Interamericana, 522 p., Cap. III.
- BARCELÓ COLL y otros (1992). *Fisiología vegetal*. Cap. III, IV y V, pp. 59-107, Pirámide, 662 p.
- BREVEDAN, R., N. CURVETTO y otros (1996). *Guía de trabajos prácticos de Fisiología vegetal*. Departamento de Agronomía, Universidad Nac. del Sur, Bahía Blanca, 61 p.
- MAZLIAK, M. (1976). *Fisiología vegetal*. Nutrición y metabolismo. Omega, 350 p.
- SÍVORI, E., E.R. MONTALDI y O.H. CASO (1980). *Fisiología vegetal*. Cap. XI, pp. 345-360. Hemisferio Sur, 681 p.
- SUTCLIFFE, J. (1984). *Las plantas y el agua*. Barcelona: Omega, Cuadernos de Biología, 91 p.

[illegible]