

ANALISIS POROMETRICO EN *Crambe abyssinica* Hochst. BAJO CONDICIONES DE SEQUIA

José Luis Chan Castañeda¹ y James L. Fowler²

RESUMEN

El comportamiento estomatal de las plantas cuando se someten a períodos de sequía puede ser un factor importante en el proceso de adaptación a tales condiciones. Las lecturas porométricas (transpiración y resistencia a la difusión) pueden tener especial significado para seleccionar plantas más tolerantes o resistentes a la sequía. En este artículo se discute el análisis porométrico de cuatro experimentos. Se observó que la resistencia a la difusión de las hojas de crambi aumentó conforme el potencial total de agua en el suelo disminuyó, mientras que la transpiración se comportó en sentido contrario. En este artículo se presenta, además, un método analítico para examinar datos de porometría con fundamentos fisiológicos y con capacidad para contestar preguntas acerca del comportamiento de genotipos y su discriminación con base en aseveraciones probabilísticas.

SUMMARY

Stomatal behavior in plants as they are water-stressed, might be an important factor in the adaptation process to such condition. Porometric readings (transpiration and leaf diffusion resistance) may have special meaning in selecting drought tolerant plants. In this paper the porometric analysis is discussed for four experiments. It was observed that the leaf diffusion resistance of crambi increased as the total soil water potential decreased. Transpiration, on the other hand, had the opposite behavior. An analytic method which allows the examination of porometric data based on physiological grounds, in such a manner that it would allow to answer questions about genotype behavior, is also shown in this paper.

INTRODUCCION

Transpiración (T), se refiere a la pérdida de agua de las plantas en forma de vapor. La transpiración es entonces el proceso de difusión a través de los estomas y de las lenticelas; de estos dos conductos, los estomas son más importantes (Meindner y Sheriff, 1976). Por otra parte, la resistencia estomatal a la difusión (RD) es parte operativa del control del balance hídrico de la planta.

El cierre estomatal se presenta hasta que la deficiencia de agua pasa por un determinado umbral de potencial de agua en la planta o en el suelo; es entonces cuando

1 Investigador del INIFAP, becado por el CONACYT en el período 1980-1982. New Mexico State University. U.S.A.

2 Profesor asociado. Department of Crop and Soil Sciences. New Mexico State University. U.S.A.

los estomas cierran rápida y casi completamente. La posición de este umbral puede estar entre -7 y -18 barrios de potencial del agua en la planta (Vaadia *et al.*, 1961; Hsiao, 1973; Raschke, 1975). En general se reconocen tres fases en la pérdida de agua en plantas sometidas a sequía: Fase I, pérdida de agua constante, cuando existe poco o casi nada de control estomatal; Fase II, disminución rápida de la transpiración por el cierre estomatal progresivo; y Fase III, la fase cuticular, cuando los estomas aparecen completamente cerrados al microscopio óptico con límite de resolución de una micra (aproximadamente el diámetro de 3000 moléculas de agua).

Algunos investigadores sostienen que el cierre estomatal debido a déficit hídricos, ya sea medido en función del potencial de agua del suelo, de la planta o del contenido relativo de agua, está relacionado con la tolerancia a la sequía en algunas especies y cultivares de plantas mesófitas (Bhagsari *et al.*, 1976; Sivakumar y Shaw, 1978; Levitt, 1980). El comportamiento diferencial de cultivares de la misma especie ha dado origen a la hipótesis de que la sensibilidad del movimiento estomatal puede utilizarse como un indicador para seleccionar cultivares con tolerancia a la sequía (Henzell *et al.*, 1975). Sin embargo, el análisis de los datos porométricos utilizado hasta la fecha, no permite seleccionar eficientemente con base en estas respuestas (Henzell *et al.*, 1975; Shepherd, 1975; Ceulemans *et al.*, 1979; Quarrie y Jones, 1979; O'Toole y Cruz, 1980), ya que en sus procedimientos analíticos no describen adecuadamente el comportamiento estomatal.

Debe de reconocerse que tanto la transpiración como la resistencia a la difusión son afectadas por factores ambientales (Milthorpe y Spencer, 1957; Gates, 1968; Raschke, 1975), tales como la luz, la humedad relativa, la concentración de CO₂, la disponibilidad de agua en el suelo y procesos metabólicos, entre otros. Esto explica la alta variabilidad observada con frecuencia en estudios de porometría.

La instrumentación moderna ha permitido que en la actualidad el estudio de la resistencia a la difusión sea rutinario, ya que es práctico, no destructivo, rápido y se puede usar en el campo, el invernadero o en la cámara de ambiente controlado (Beardsell *et al.*, 1972).

Esta investigación tuvo como objetivo determinar el comportamiento estomatal de *Crambe* (sp.) en condiciones de sequía, y calibrar procedimientos analíticos para su evaluación.

MATERIALES Y METODOS

Se condujeron cuatro experimentos en condiciones de invernadero, en las instalaciones de la Universidad Estatal de Nuevo México, Las Cruces, NM. El período experimental fue del 1^o de noviembre de 1980 al 17 de marzo de 1981. En general, el régimen térmico fue de 30°C durante el día y de 18°C en la noche, y la humedad relativa varió del 25 al 75%.

En todos los experimentos se regó con un sistema automático programado de acuerdo con las necesidades de la planta. Se utilizaron macetas estándar de 17.8 cm de diámetro, con una planta por maceta. Los cultivares "Meyer" y "Prophet" se usaron como se describe en cada experimento.

El potencial del agua en el suelo (PAS) se midió con higrómetros/psicrómetros PT-51 y un microvoltímetro de punto de rocío HR-33 de Wescor, Inc. Los higrómetros/psicrómetros previamente calibrados se instalaron en el centro de la maceta antes de llenarla con el medio de cultivo. El porómetro utilizado en estos experimentos fue el LI-1600 de LI-COR, Inc.

Experimento 1

El experimento 1 se realizó con el objetivo de calibrar la respuesta de crambi, en su mecanismo estomatal, al avance progresivo de la sequía en el suelo en dos diferentes condiciones de demanda evaporativa (baja demanda evaporativa por la mañana y alta demanda evaporativa por la tarde). La siembra se efectuó el 4 de noviembre de 1980. Durante la etapa vegetativa las plantas se mantuvieron con suficiente humedad en el suelo, regando cada vez que se hizo necesario para que no sufrieran sequía. Pocos días antes de la apertura floral, las seis plantas de cada cultivar ("Meyer" y "Prophet") fueron sometidas a un ciclo de sequía, el cual consistió en suspender completamente el riego hasta que el suelo mostró un potencial hídrico de -15 bares. Se tomaron dos lecturas diarias de transpiración y resistencia a la difusión durante el ciclo de sequía, una lectura a las 7:00 horas y otra a las 14:00 horas. Las lecturas iniciaron el 27 de diciembre de 1980 y finalizaron el 3 de enero de 1981. El haz de la sexta hoja (acropetalmente) fue utilizada para el muestreo. El medio de cultivo fue una mezcla (1:1:1) de arcilla, "peat moss" y arena.

Experimento 2

Se evaluaron dos cultivares de crambi ("Meyer" y "Prophet") con el objetivo de

caracterizar su mecanismo estomatal en relación a cuatro niveles de sequía (PAS = -0.3, -0.8, -2.5 y -12.0 bares). La siembra de los dos cultivares se realizó el 4 de noviembre de 1980 y las lecturas se tomaron de la quinta hoja (acropetalmente) en el haz y el envés, entre las 10:00 y las 14:00 horas del día 24 de diciembre de 1980, cuando las plantas estaban sujetas a sequía, justamente al inicio de su floración. Los tratamientos de sequía se obtuvieron al suspender el riego a las macetas en forma diferencial a través del tiempo, hasta que se registraron los potenciales hídricos del suelo que se indican; de tal manera que la medición de transpiración y resistencia a la difusión fue el mismo día para todos los tratamientos.

Los dos cultivares y los cuatro tratamientos de sequía fueron instalados en un diseño experimental de bloques al azar con ocho repeticiones. El medio de cultivo fue similar al experimento 1.

Experimento 3

El experimento 3 tuvo como objetivo particular caracterizar al cultivar de crambi "Meyer" en su mecanismo estomatal en relación a cinco niveles de sequía (PAS = -0.3, -2.0, -4.0, -8.0 y -12.0 bares), en forma similar al experimento 2. Pero en este experimento el medio de cultivo fue arena lavada, lo cual implica fuertes diferencias en la velocidad de abatimiento de la humedad en el medio de cultivo y en la disponibilidad de nutrimentos para la planta. El aspecto de nutrición fue manejado con aplicaciones de solución nutritiva "Hoagland" con doble concentración, la cual se aplicó en el sistema de riego.

La siembra se efectuó el 1º de noviembre de 1980. Los tratamientos de sequía se instalaron en un diseño experimental de bloques al azar con seis repeticiones. Las lecturas de transpiración y resistencia a la difusión se tomaron cuando las plantas estaban sufriendo el tratamiento de sequía, en el haz y el envés de la quinta hoja (acropetalmente), el día 27 de diciembre de 1980 entre las 10:00 y 14:00 horas.

Experimento 4

El objetivo de este experimento fue el de caracterizar el mecanismo estomatal de crambi (cultivares "Meyer" y "Prophet") en función de la cantidad de ciclos consecutivos de sequía. Un ciclo de sequía se logró al detener el riego hasta que el potencial hídrico en el suelo disminuyó a -5 bares y después se regó normalmente hasta que las plantas mostraron una apariencia de recuperación completa antes de

iniciar otro ciclo. Los tratamientos a que se sometieron los cultivares fueron de 0, 1, 2 y 3 ciclos de sequía, correspondiendo al de 0 ciclos de sequía el tratamiento testigo sin sequía. La siembra se realizó el 7 de enero de 1981, en un medio de cultivo y tipo de riego similares al del Experimento 3. El primer ciclo de sequía se suministró el 16 de febrero de 1981 en los tratamientos de 1, 2 y 3 ciclos de sequía, el 26 de febrero se inició el segundo ciclo de sequía en los tratamientos de 2 y 3 ciclos de sequía; finalmente, el tercer ciclo de sequía inició el 9 de marzo de 1981, en el cual participaron únicamente las plantas del tratamiento de tres ciclos de sequía. Los tratamientos que sufrieron ciclos consecutivos de sequía tuvieron períodos de recuperación de tres días entre ciclo y ciclo.

Las lecturas de transpiración y resistencia a la difusión se tomaron en el haz y el envés de la quinta hoja el 17 de marzo de 1981, cuando las plantas del último ciclo de sequía mostraban turgencia, indicador que se tomó como recuperación completa.

Los cultivares y los tratamientos de ciclos de sequía se instalaron en un diseño experimental completamente al azar, con cuatro repeticiones.

Procedimiento de análisis

El análisis estadístico de los experimentos 1, 2 y 3 se enmarcó en un enfoque regresional. Las bases fisiológicas del comportamiento estomatal (Vaadia *et al.*, 1961; Raschke, 1975) sugieren un modelo de dos líneas rectas, una línea cubriendo la fase I en la cual los estomas son relativamente insensibles a la sequía; y la segunda línea, descriptora de la fase II, donde los estomas cierran progresivamente, y por tanto la transpiración se reduce. Este fenómeno puede ser descrito por el modelo llamado "Piecewise Linear Regression" (Draper y Smith, 1966; Neter y Wasserman, 1974). El modelo estadístico asociado con esta formulación es:

$$Y_i = a + bX_{i1} + C(X_{i1} - A) D + e_i \quad (1)$$

donde:

Y_i = Respuesta (transpiración o resistencia a la difusión)

a = Intercepto

b = Pendiente de la primera línea

X_{i1} = Potencial del agua en el suelo

C = Pendiente de la segunda línea

A = Umbral, punto de intersección entre las líneas

D = Variable indicadora ($D = 0$, cuando $X_{i1} \leq A$; y $D = 1$ cuando $X_{i1} > A$)

e_i = Error

En este modelo se supone que el punto A se conoce, por lo que se corrieron análisis para valores de A desde -2.5 hasta -6.0 bares con intervalos de 0.5 bares. El modelo seleccionado finalmente, fue aquel que mostró el mínimo cuadrado medio del error. Posteriormente, se hizo eliminación de variables no significativas en el modelo completo mediante el procedimiento "Backward" de SAS. Otras pruebas que se hicieron al modelo fueron: falta de ajuste, Durbin-Watson para errores correlacionados, análisis de residuales y gráficas de residuales.

En los experimentos con dos cultivares, el modelo se extendió con una variable indicadora más (Cv) y sus interacciones. La definición de la variable Cv fue: Cv = 0 para Meyer y Cv = 1 para Prophet.

El experimento 4 se analizó por análisis de varianza para el diseño experimental utilizado. La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSION

Experimento 1

La tendencia observada en resistencia a la difusión (RD), con respecto a-PAS se muestra en la Figura 1. Se encontró que en la tarde, cuando la demanda evaporativa es mayor, la RD aumenta linealmente conforme disminuye el PAS, o sea conforme el agua es menos disponible. Sin embargo, en la mañana cuando la demanda evaporativa es mucho menor, la tendencia de la RD muestra tanto la fase I donde los estomas son relativamente insensibles, como la fase II donde el cierre de los estomas es progresivo. En RD no se encontró diferencia significativa entre cultivares ($P = 0.05$). Se observó un cierto paralelismo entre las pendientes de las líneas de la mañana y de la tarde, implicando que la velocidad del cierre de los estomas es similar en ambos tiempos, aunque en la mañana el cierre estomatal se inicia hasta que la disponibilidad de agua es reducida; en cambio, en la tarde los estomas empiezan a cerrarse de inmediato aunque haya suficiente agua disponible. Lo anterior indica que, en las condiciones de este estudio, las plantas sufren "sequía fisiológica" en el día cuando la demanda evaporativa es alta, o sea cuando el ambiente demanda más agua de la

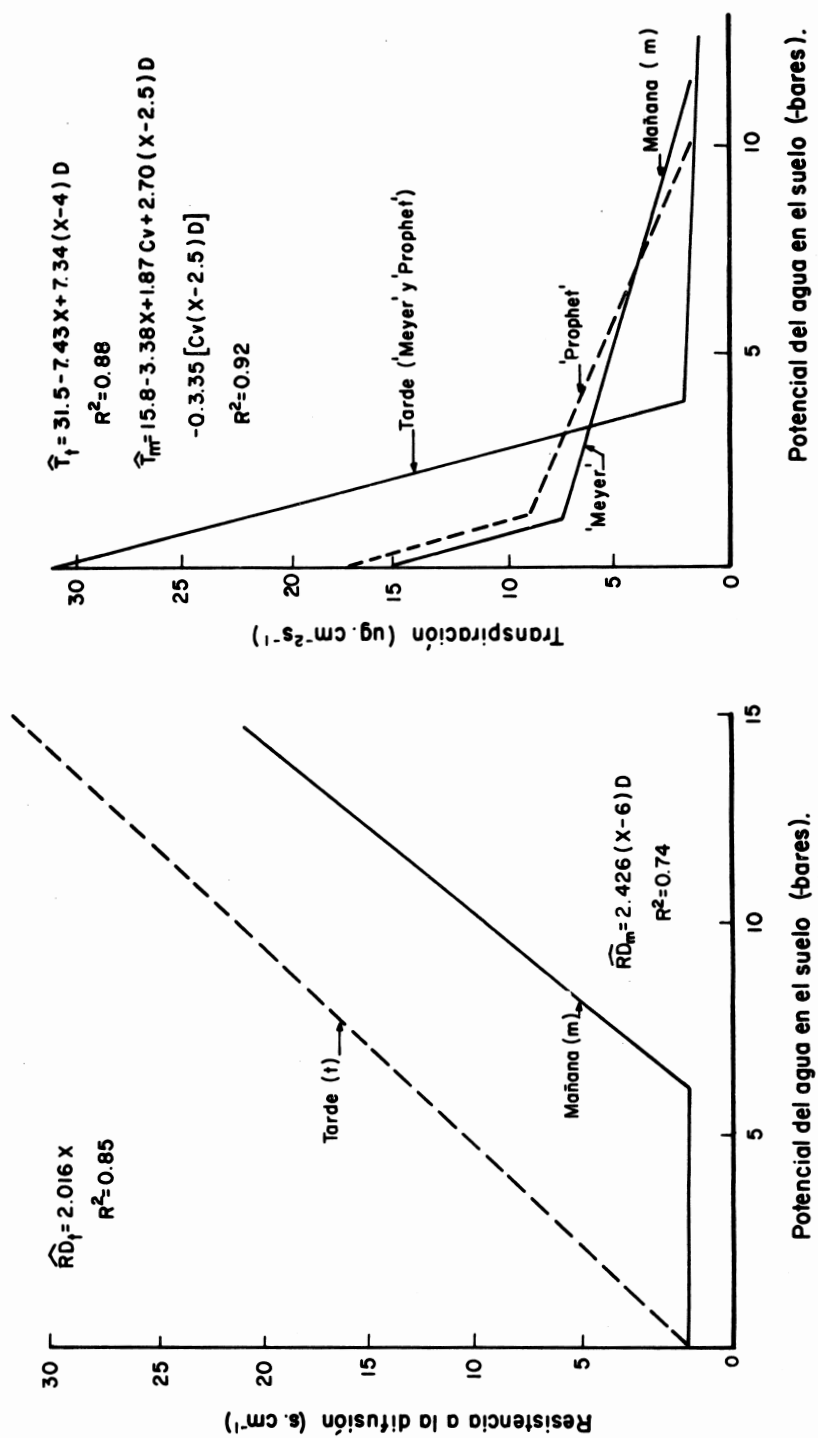


Figura..I Resistencia a la difusión (RD) y transpiración (T) en función de la disponibilidad de agua en el medio de cultivo. Experimento I.

que pueden abastecer las raíces de la planta.

Los dos cultivares se comportaron en forma idéntica en transpiración (Figura 1), cuando la medición fue vespertina, pero la respuesta de los cultivares fue diferente durante la medición matutina. La transpiración claramente tiende a disminuir conforme disminuye el PAS tanto en la mañana como en la tarde, pero en la tarde la disminución es más marcada y los estomas prácticamente alcanzan el cierre aún en PAS relativamente altos (PAS = -4 bares). Durante la mañana la tasa de transpiración se mantiene más alta, aunque disminuyendo lentamente, si el PAS es de -4 bares o menos.

En cuanto a la respuesta de cultivares, "Meyer" presentó una tasa transpiratoria ligeramente menor que "Prophet" en la fase I, pero esta relación se invirtió conforme el PAS se redujo (Figura 1).

Experimento 2

En especies anfiestomatales (con estomas en ambas caras de la hoja), se han señalado respuestas diferenciales a la sequía entre el haz y el envés. Por ejemplo, en arroz (*Oryza sativa*) la RD fue mayor en el envés que en el haz (O'Toole y Cruz, 1980); pero en algodónero (*Gossypium hirsutum*) la respuesta fue opuesta (Davies, 1977) y en tomate (*Lycopersicon esculentum*) no hubo diferencias (Hsiao, 1973). En crambi (Figura 2) la resistencia a la difusión fue mayor en el envés que en el haz, con diferencias entre los dos cultivares sólo en el envés. El cultivar "Prophet" cerró sus estomas del envés más rápidamente que "Meyer" conforme disminuyó el PAS.

En transpiración (Figura 2) los cultivares resultaron iguales, pero la tasa transpiratoria fue diferente entre el haz y el envés. El haz de la hoja tuvo una tasa transpiratoria más alta que el envés, tanto en alta como en baja disponibilidad de agua en el suelo.

Experimento 3

Este experimento, por incluir más niveles de sequía, permitió observar con más detalle las fases del comportamiento estomatal (Figura 3). La resistencia a la difusión fue mayor en el envés que en el haz y consecuentemente la transpiración fue mayor en el haz de la hoja. De acuerdo con el modelo seleccionado, los estomas de crambi muestran insensibilidad hasta PAS = -3 bares, lo que señala este punto como el umbral en donde la resistencia a la difusión tiende a aumentar rápidamente. Note,

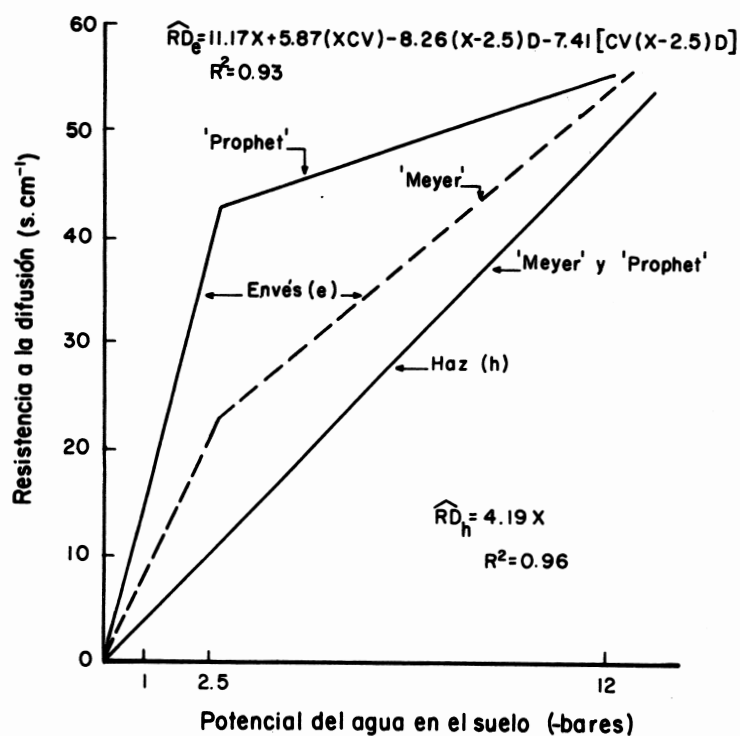
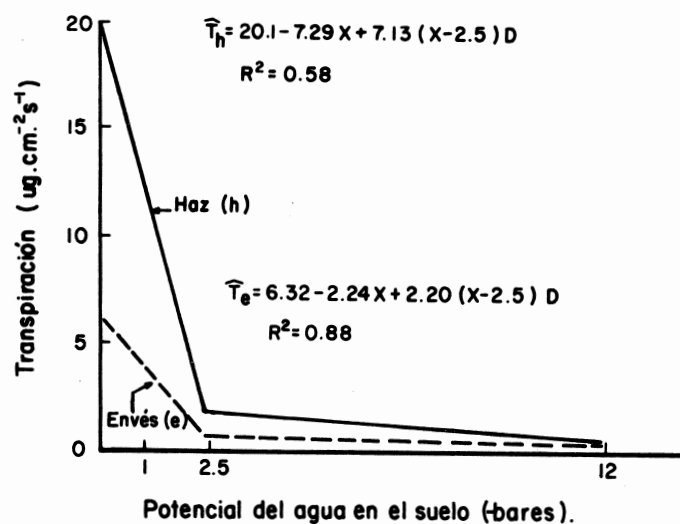


Figura ...2. Transpiración (T) y resistencia a la difusión (RD) en función de la disponibilidad de agua en el medio de cultivo. Experimento 2.

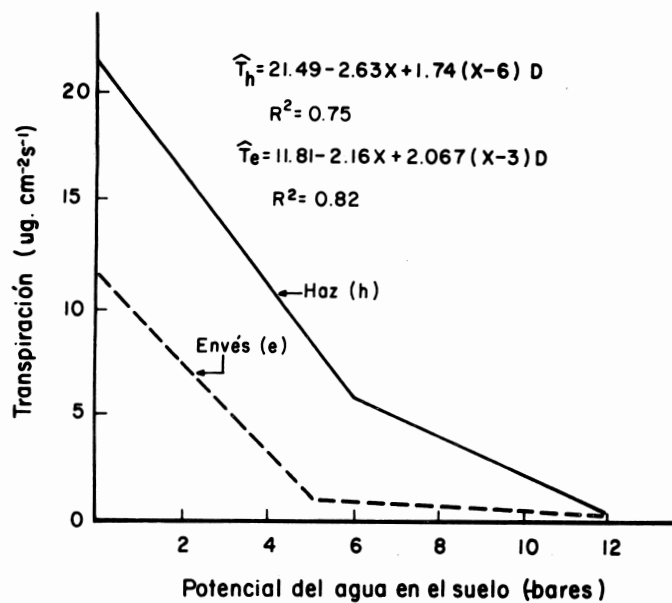
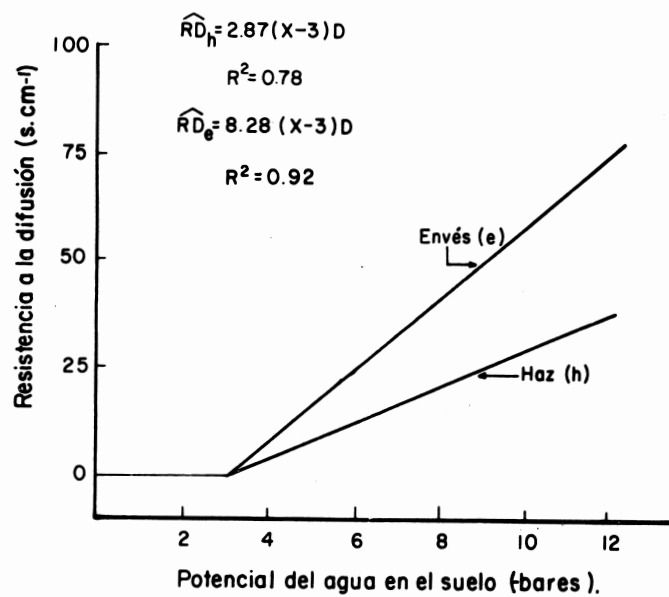


Figura 3 Resistencia a la difusión (RD) y transpiración (T) en función de la disponibilidad de agua en el medio de cultivo. Experimento 3.

sin embargo, que el PAS umbral para tasa transpiratoria ocurrió entre -5 y -6 bares, indicando que la transpiración de crambi no se abatió inmediatamente al empezar a cerrar los estomas.

La reacción que mostraron las plantas de crambi indica que esta especie usa el mecanismo de cierre estomatal como un ajuste al déficit de agua, o sea que tiende a conservar agua restringiendo la transpiración vía estomatal.

Experimento 4

El análisis de varianza indicó ausencia de diferencias significativas para todos los componentes de varianza en los datos de RD y T en el haz de la hoja; pero sí existieron diferencias significativas en RD y T en el envés de las hojas para los efectos principales: cultivares (Cv) y ciclos de sequía (CS), mas no para la interacción (Cv x CS).

Los resultados obtenidos en este experimento se resumen en el Cuadro 1. La resistencia a la difusión y la transpiración en el haz de la hoja durante la recuperación bajo riego, no fue afectada significativamente por los ciclos de sequía previa-

Cuadro 1. Respuesta promedio de resistencia a la difusión (RD) y transpiración (T) de dos cultivares de crambi sometidos a ciclos de sequía.

Efectos Principales	Haz		Envés	
	RD	T	RD	T
	s.cm ⁻¹	μ _g cm.s ⁻²⁻¹	s.cm ⁻¹	μ _g cm.s ⁻²⁻¹
Cultivares				
"Meyer"	0.90 a	17.58 a	1.86 a	10.89 a
"Prophet"	0.91 a	18.06 a	1.33 b	13.30 b
Ciclos de sequía				
0	1.00 a	16.17 a	1.97 a	10.15 b
1	1.00 a	16.80 a	1.96 a	10.02 b
2	0.85 a	19.09 a	1.32 ab	12.98 ab
3	0.79 a	19.20 a	1.11 b	15.22 a

Medias de cada efecto principal con la misma literal son estadísticamente iguales (Duncan, 5%).

mente impuestos, en ninguno de los dos cultivares sin embargo la resistencia a la difusión y la transpiración en el envés mostraron diferencias significativas tanto para cultivares como para ciclos de sequía. El cultivar "Prophet" tuvo menor resistencia a la difusión y mayor transpiración que el cultivar "Meyer". Los ciclos de sequía provocaron una disminución en la resistencia a la difusión y mayor transpiración de las hojas de crambi. Según la prueba de contrastes ortogonales, la reducción en RD y el aumento en T obedecen a un efecto lineal. Lo anterior implica que el aumentar los ciclos de sequía de 0 a 3, se disminuye la RD o se aumenta la T en forma lineal, debido posiblemente al preacondicionamiento del aparato estomatal del crambi. Esto quiere decir que posiblemente se incrementa la tolerancia a la sequía con ciclos sucesivos de sequía, como los aplicados en el presente experimento (Cutler y Rains, 1977).

CONCLUSIONES

El comportamiento estomatal de crambi fue similar al que se ha observado en otras especies de plantas mesófitas. Conforme aumenta la sequía, la resistencia a la difusión también aumenta si la demanda evaporativa es alta; pero cuando la demanda evaporativa es baja, la resistencia a la difusión se mantiene baja, hasta que llega al umbral entre -3 y -6 bares, pasado el cual aumenta rápidamente.

La transpiración, por otra parte, es alta ($20-30 \mu\text{g} \cdot \text{cm} \cdot \text{s}^{-2-1}$) cuando el potencial del agua en el suelo es alto, pero disminuye rápidamente tan pronto como el potencial del agua en el suelo disminuye de -2.5 a -5.0 bares.

BIBLIOGRAFIA

- Beardsell, M.F., P.G. Jarvis and B. Davidson. 1972. A null-balance diffusion porometer suitable for use with leaves of many shapes. J. Appl. Ecol. 9:677-690.
- Bhagsari, A.S., R.H. Brown and J.S. Schepers. 1976. Effect of moisture stress on photosynthesis and some related physiological characteristics in peanut. Crop Sci. 16: 712-715.
- Ceulemans, R., I. Impens and R. Gabriels. 1979. Comparative study of leaf water potential, diffusion resistance, and transpiration of azalea cultivars subjected to water stress. Hort Sci. 14: 507-509.
- Cutler, J.M. and D.W. Rains. 1977. Effects of irrigation history on responses of cotton to subsequent water stress. Crop Sci. 17: 329-335.

- Davies, W.J. 1977. Stomatal responses to water stress and light, in plants grown in controlled environments and in the field. *Crop Sci.* 17: 785-790.
- Draper, N.R. and H. Smith. 1966. *Applied regression analysis*. John Willey & Sons Inc. New York.
- Gates, D.M. 1968. Transpiration and leaf temperature. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 19: 211-238.
- Henzell, R.G., K.J. McCree, C.H.M. van Bavel and K.F. Schertz. 1975. Method for screening sorghum genotypes for stomatal sensitivity to water deficits. *Crop Sci.* 15: 516-518.
- Hsiao, T.C. 1973. Plant responses to water stress. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24: 519-570.
- Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Vol. II. Water Radiation, Salt, and Other stresses. Academic Press Inc. New York.
- Meidner, H. and D.W. Sheriff. 1976. *Water and Plants. Tertiary Level Biology*. Thompson Litho, Ltd. Scotland.
- Milthorpe, F.L. and J.E. Spencer. 1957. Experimental studies of the factors controlling transpiration. II. The interrelations between transpiration rate, stomatal movement, and leaf water content. *J. Exp. Bot.* 8:413-437.
- Neter, J. and W. Wasserman. 1974. *Applied linear statistical models*. Richard D. Irwin, Inc. Illinois.
- O'Toole, J.C. and R.T. Cruz. 1980. Response of leaf water potential, stomatal resistance, and leaf rolling to water stress. *Plant Physiol.* 65: 428-432.
- Quarrie, S.A. and H.G. Jones. 1979. Genotypic variation in leaf water potential, stomatal conductance, and abscisic acid concentration in spring wheat subjected to artificial drought stress. *Ann. Bot.* 44: 323-332.
- Raschke, K. 1975. Stomatal action. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 26: 309-340.
- Shepherd, W. 1975. Indices of plant water status: some comparisons between crop species. *J. Appl. Ecol.* 12:205-209.
- Sivakumar, M.V.K. and R.H. Shaw. 1978. Relative evaluation of water stress indicators for soybeans. *Agron. J.* 70: 619-622.
- Vaadia, Y., F.C. Raney and R.M. Hagan. 1961. Plant water deficits and physiological processes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 12: 265-292.