

MÉTODOS FISIOTÉCNICOS PARA ESTUDIAR ESPECIES HORTÍCOLAS BAJO AGOBIO HÍDRICO: REVISIÓN CONCEPTUAL Y METODOLÓGICA

**E. Troyo-Diéguez^{1¶}; B. Murillo-Amador¹;
E. O. Rueda-Puente²; A. Nieto-Garibay¹;
R. D. Valdez-Cepeda³; H. C. Fraga-Palomino¹;
J. L. García-Hernández¹**

¹Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. Mar Bermejo 195,
Col. Playa Palo de Santa Rita, Apartado Postal 128, La Paz, Baja California Sur,
MÉXICO. Correo-e: etroyo04@cibnor.mx ([¶]Autor responsable)

²Universidad de Sonora. Unidad Santa Ana, Santa Ana, Sonora. MÉXICO.

³Departamento de Matemáticas. Universidad Autónoma de Zacatecas.
Zacatecas, Zac, MÉXICO.

RESUMEN

El estudio del balance del agua en las plantas y cultivos de zonas secas es fundamental para comprender los procesos fisiológicos de producción y su adaptación a las condiciones ambientales donde prevalezca deficiencia de agua o estrés hídrico. Actualmente se han propuesto diferentes conceptos para caracterizar el estado hídrico en las plantas. El objetivo de este estudio fue analizar algunos de los métodos más utilizados para el estudio de plantas bajo estrés hídrico. Dichos métodos se basan en la medición del potencial hídrico y sus componentes, así como en la evaluación de la transpiración. Por su parte, el análisis de las curvas presión-volumen permite calcular el potencial osmótico y el potencial de turgencia. Lo anterior es importante para el estudio de los cultivos bajo diferentes gradientes ambientales y para comparar ecotipos o variedades de una especie vegetal. Diversas consideraciones deben tomarse en cuenta para que su aplicación redunde en información útil para la elaboración de conclusiones válidas en investigación básica o aplicada. Dichas consideraciones deben incluir una precisa valoración acerca de la fisiología propia de la planta, que abarca necesariamente varios aspectos como la edad de la misma, época y hora de medición, estado de sanidad y funcionamiento a nivel de planta completa.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: potencial hídrico, potencial osmótico, potencial de turgencia, curvas presión-volumen, transpiración, agobio hídrico, estrés hídrico.

CROPPHYSIOLOGY METHODS TO STUDY HORTICULTURE CROPS UNDER WATER STRESS: A CONCEPTUAL AND METHODOLOGICAL REVIEW

ABSTRACT

The study of internal water relations or water balance within the plants and crops in dry zones is relevant to understand the physiological processes involved in the production and adaptation to the environmental conditions where a water deficit prevails. Since some time ago, several authors have proposed different concepts to describe the water status within a plant. The aim of this work is to analyze some of the popular methods commonly used to study plants or crops under water stress. Such methods are based on the measurement of the water potential and its components, as well as the transpiration process. An analysis of the pressure-volume curve is useful to calculate the osmotic potential and the turgor pressure. This possibility is relevant to get a deeper understanding into the study of plants and crops growing under different water-stressed environmental conditions, and to compare genotypes, genetic lines or varieties of a plant species. Several sources and possibilities of error must be considered in order to collect useful information to propose valid conclusions, in basic or applied research. Such considerations must include a precise estimation of the physiology of the plant or crop under study, taking into account other features as plant age, season and time of measurement, health status and overall performance at the whole plant level.

ADDITIONAL KEY WORDS: water potential, osmotic potential, turgor pressure, pressure-volume curve, transpiration, water stress.

INTRODUCCIÓN

El estudio del estado interno y flujo del agua en las plantas es importante para el entendimiento de su adaptación a los ambientes desfavorables (Kramer, 1974). El balance del agua en las plantas varía día con día debido a diversos factores: cambios en la incidencia de la luz, variaciones de las lluvias y sequías, temperatura, insolación y otras variables (Fitter y Hay, 2002). Los cambios en el suministro de agua se reflejan en variaciones pasivas y reversibles o activas e irreversibles, del potencial osmótico del fluido vacuolar. Las variaciones del potencial osmótico (π) vacuolar en plantas bajo una radiación intensa oscilan de dos a seis atm entre el valor máximo (medio día) y el valor mínimo (amanecer) y se deben a un desequilibrio transitorio entre la absorción y la pérdida de agua. Bajo un balance hídrico desfavorable con un desequilibrio hídrico interno, un mecanismo de defensa es el 'ajuste osmótico', al disminuir el potencial osmótico (π) para mantener la turgencia (Warwick y Thukten, 2006).

Importancia del estudio de la condición hídrica de las plantas

Según Kramer (1974) y Koide *et al.* (1991), los cambios en el metabolismo debidos a un agobio gradual están dados por respuestas regulatorias. El estudio del balance del agua en plantas de zonas secas es fundamental para comprender los procesos de adaptación vegetal bajo deficiencia de agua. En situaciones de sequía, la planta experimenta cambios en los niveles fisiológico y morfológico. En un estudio sobre relaciones hídricas suelo-planta, la desecación del suelo indujo variación diurna del potencial del agua en la superficie de la raíz, cuyo valor mínimo ocurre después del medio día (Li *et al.*, 2002). Confalone y Navarro-Dujmovich (1999) encontraron que el déficit de agua alteró la captura y uso de la radiación en soya, según el momento y severidad del estrés. Por su parte, Bustamante-Orañegui *et al.* (1999) observaron en tomate protegido, que el factor más adverso fue la baja humedad relativa, la cual al combinarse con una alta temperatura provocó un elevado déficit de presión de vapor atmosférico. En cuanto a semillas, Rodríguez-Guzmán *et al.* (1998) encontraron respuestas de genotipos de tomate a la π de una solución nutritiva debidas a la interacción 'solución x genotipo'. El osmo-acondicionamiento de semillas induce tolerancia al estrés aplicado y previene futuras disfunciones (Mora-Aguilar *et al.*, 2006).

ANTECEDENTES CONCEPTUALES

Bases fisiológicas de la medición del potencial hídrico (Ψ)

El agua es fundamental para los seres vivos; entre sus características especiales se distinguen: el enlace del hidrógeno (clave para los atributos fisiológicos del agua), estado líquido a la temperatura ambiente, volumen casi

constante para fines prácticos, calor específico unitario (casi una caloría para elevar en un °C, un g de agua), elevado calor latente de vaporización y fusión, fuerzas bajas de viscosidad, adhesivas y cohesivas, y alta constante dieléctrica (solvente de alta capacidad). Las moléculas de agua tienen energía potencial que se puede convertir en energía cinética, componentes de su energía libre. La energía libre por cantidad de unidad de un compuesto es el potencial químico; para el agua, las unidades del potencial químico se derivan del volumen molar parcial, por tanto, las unidades del potencial hídrico (Ψ) son de presión (atm o MPa) (Rodríguez-Mellado y Marín-Galvín, 1999).

Mecanismos de respuesta de las plantas al agobio hídrico

Levitt (1980) estableció la siguiente clasificación de respuestas a la sequía:

- 1) Escape a la sequía. Respuesta a nivel de la longevidad de las plantas; dicho grupo incluye las plantas anuales que soportan la sequía en forma de semillas.
- 2) Evasión de la sequía. En plantas de ciclo de vida largo se manifiestan mecanismos para mantener Ψ 's elevados, aún expuestas a déficits hídricos extremos. Tales mecanismos incluyen: reducción de pérdida de agua mediante adaptaciones morfo-anatómicas, como barreras cuticulares, disminución de la proporción superficie/volumen, caducifoleidad, pubescencia, desarrollo de espinas, movimientos foliares (Begg, 1980), mantenimiento de la absorción de agua y la optimización del metabolismo en plantas CAM bajo estrés hídrico (Ortiz-Hernández *et al.*, 1999).
- 3) Resistencia a la sequía. El Ψ de las plantas que toleran la sequía presenta valores bajos; la adaptación a tales potenciales se debe al mantenimiento de valores positivos del potencial de turgencia (Pt) (Levitt, 1980; Shackel, 1997), lo cual es una ventaja adaptativa de las plantas al déficit de agua. Cabe recordar que existen canales iónicos que regulan la entrada de aniones desde el exterior y que participan en la turgencia (Rodríguez-Pérez, 2006). Pt es la diferencia de Ψ menos π (Ecuación 1):

$$Pt = \Psi - \pi \quad \text{[Ecuación 1]}$$

Dado que Ψ y π son valores negativos, π debe ser más bajo (más negativo) que Ψ para que la célula permanezca turgente. La disminución del π celular ante el déficit hídrico puede deberse a un aumento de solutos y se logra abatiendo el volumen de agua celular. También puede deberse a un ajuste osmótico. A su vez, la magnitud del Pt depende de la

elasticidad de las paredes celulares. Para un cierto valor de Ψ , un tejido elástico tiene una turgencia mayor que uno rígido (Kramer, 1974). Si se tabulan valores de π y de Pt, se puede construir el Cuadro 1, donde se observa que a los 100 segundos el valor del Déficit de la Presión de Difusión (DPD) (equivalente a Ψ) es cero, por lo que ya no entra agua en virtud de que la célula se encuentra turgente. Al graficar los valores del Cuadro 1 no forman una línea recta, sino un arco de circunferencia o semicircunferencia. El proceso por el cual la célula vegetal pierde agua en un medio más concentrado que ella, se denomina "plasmólisis" e implica una deshidratación gradual (Shackel, 1997).

Factores que afectan el estado interno hídrico de las plantas

Diversas características ambientales, genéticas y de manejo afectan la fisiología hídrica de las plantas. La distribución, la geometría y la cantidad de follaje provocan diferencias en la interceptación de radiación, que generan distintos niveles de estrés hídrico y diferencias en el Ψ foliar. Lissarrague *et al.* (1991), estudiando vides irrigadas adecuadamente, concluyeron que las diferencias de altura de vegetación están determinadas por las variaciones de Ψ foliar. En un experimento con *Solanum melongena* L., se aplicó tensión hídrica en tres etapas, disminuyendo la frecuencia de estomas, el contenido relativo de agua y el Ψ interno (Prakash y Ramachandran, 1999). En condiciones de sequía, la variación genotípica en chícharo de vaca (*Vigna unguiculata* L. (Walp)) es un factor que influye incrementando la conductancia (Anyia y Herzog, 2004). Por otro lado, las diferencias en la arquitectura de tejidos verdes y rebrotes, en peciolo de vid (*Vitis vinifera* L.), sugieren que los estomas pueden prevenir el embolismo (boqueo de la conducción de agua debido a la presencia de burbujas de aire) a diferentes Ψ_{hoja} (Schultz, 2003). En diez cultivos diferentes bajo condiciones de alta luminosidad y adecuadamente irrigados, se encontró que con luz a saturación y suficiente agua, la conductancia estomática (g) estuvo altamente correlacionada con la tasa media de asimilación de CO_2 (A) (Franks, 2006). Por su parte, especies como la zarzamora en suelo con déficit hídrico, disminuyen la transpiración y aumentan la

resistencia estomática, manteniendo el Pt foliar (Parra-Quezada *et al.*, 1999). En tomate se ensayó el método de las emisiones acústicas (EA); las EA se incrementaron y correlacionaron con los aumentos en la transpiración en condiciones de estrés (Qiu, 2002). Por lo anterior, es evidente que las especies difieren en sus parámetros hídricos, Ψ , transpiración y otros (Kramer, 1974); en el Cuadro 2 se detallan valores de especies horto-frutícolas según diferentes autores.

MÉTODOS DE EVALUACIÓN DEL POTENCIAL HÍDRICO (Ψ)

Para el diseño y ejecución del muestreo en estudios del Ψ en plantas, debe considerarse que los cambios en el suministro de agua se reflejan en el π vacuolar. Bajo una intensa radiación solar, la citada variable oscila de 2 a 6 atm, entre el valor máximo (al medio día) y el valor mínimo (amanecer). Dichas variaciones obedecen a un desequilibrio entre la absorción y la pérdida de agua por transpiración, manifestándose mediante marchitez visible temporal (la recuperación de la turgencia depende de la existencia de agua disponible en el suelo), siendo más evidente en zonas con déficit de humedad y alta radiación solar (Begg, 1980; Koide *et al.*, 1991).

Medidas directas del contenido de agua en tejidos foliares

Contenido hídrico basado en el peso seco. Método que mide el estado hídrico de las plantas como porcentaje del peso seco. El material vegetal se seca en estufa u horno a una temperatura entre 60 y 80 °C. El método no es del todo satisfactorio, especialmente con hojas, dado que aumentan el peso seco durante su vida; además, la fotosíntesis, respiración y translocación provocan cambios en la cantidad de solutos dentro de las hojas y por tanto, cambios en el peso seco de la hoja (Koide *et al.*, 1991).

Contenido hídrico relativo o contenido relativo de agua

CUADRO 1. Valores de la presión osmótica, presión de turgencia y DPD (equivalente a Ψ) durante el proceso osmótico, desde plasmólisis hasta turgencia².

Tiempo (s)	Volumen celular(relativo)	$\pi(\text{atm})$ (negativo)	Pt (atm)	DPD o Ψ (atm) (negativo)
0	1.0	15	0	15
20	1.1	14	2	12
40	1.2	13	4	9
60	1.3	12	6	6
80	1.4	11	8	3
100	1.5	10	10	0
Valor al tiempo medio	1.25	12.5	5	7.5

²Adaptado de Shackel, (1997).

CUADRO 2. Valores del potencial hídrico (Ψ), objetivos y métodos empleados en diferentes cultivos hortofrutícolas, según diversos autores.

Cultivo/especie	Objetivo	Método ²	Intervalo Ψ , MPa	Referencia
Tomate <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Estudio fisiológico de señalización hidráulica	C. Presión	-0.6 a -0.4	Else <i>et al.</i> , 1995
Durazno <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch	Efecto del método de riego y calendarización	C. Presión	-1.8 a -0.6	Bryla <i>et al.</i> , 2005
Carambola <i>Averrhoa carambola</i> L.	Estudio fisiol. de tallo con déficit hídrico del suelo	C. Presión	-2.5 a -0.6	Al-Yahyai <i>et al.</i> , 2005
Manzano <i>Malus domestica</i> Borkh.	Variabilidad morfológica de tronco y transpiración	C. Presión	-1.0 a -0.8	Naor y Cohen, 2003
Manzano CV. Golden Delicious	Influencia de humedad y nutrición en portainjertos	C. Presión	-2.5 a -1.3	Parra-Quezada <i>et al.</i> , 2002
Avellana <i>Corylus avellana</i> L.	Comparación de métodos de medición del Ψ	C. Presión Psicrómetro	-2.0 a -0.6 -0.9 a -0.3	Turner <i>et al.</i> , 1984
Tabaco <i>Nicotiana tabacum</i> L.	Estudio de transpiración en gradientes de Ψ	C. Presión	-1.0 a -0.2	Begg y Turner, 1970
Laurel <i>Laurus nobilis</i> L.	Control hidráulico de la conductancia estomática	C. Presión	-2.0 a -0.8	Salleo <i>et al.</i> , 2000
Girasol <i>Helianthus annuus</i> L.	Comparación de métodos de medición del Ψ	C. Presión Psicrómetro	-1.7 a -0.5 -2.9 a -0.3	Turner <i>et al.</i> , 1984

²C. Presión: Cámara o bomba de presión, según Scholander *et al.* (1965).

(CRA). Dada la imprecisión del peso fresco, se ha optado por expresar el contenido hídrico como porcentaje del contenido de agua a turgencia. Este método se fundamenta en la rehidratación de una hoja separada de la planta, con ciertos valores de CRA o de Ψ , en el momento de la separación y en el de turgencia máxima. El ajuste osmótico se mide como la diferencia del π a turgencia máxima de la muestra rehidratada menos la del control sin estresar (Fitter y Hay, 2002). El CRA se calcula mediante la expresión:

$$\text{CRA (\%)} = \frac{\text{Peso fresco} - \text{Peso seco}}{\text{Peso turgente} - \text{Peso seco}} \times 100 \quad [\text{Ecuación 2}]$$

Un parámetro relativo al CRA es el déficit hídrico (DH), que se clacula mediante la siguiente expresión (Kramer, 1974):

$$\text{DH (\%)} = \frac{\text{Peso turgente} - \text{Peso seco}}{\text{Peso fresco} - \text{Peso seco}} \times 100 \quad [\text{Ecuación 3}]$$

$$\text{CRA} = 100 - \text{DH} \quad [\text{Ecuación 4}]$$

El Pt varía según la especie. Siempre es necesario un manejo cuidadoso para coleccionar y procesar las muestras foliares. Una fuente de error procede de la entrada de agua a los espacios intercelulares; otra consiste en no secar la superficie de la hoja al pesarla y otro factor de error se debe a una atmósfera deshidratada en los recipientes de traslado y cámara de presión. Para evitar abatimientos en el Ψ las mediciones deben iniciarse inmediatamente después de

coleccionar las muestras. El CRA y el DH (%) expresan relaciones de pesos para evaluar en el tejido foliar los cambios en el contenido hídrico, por lo que las muestras deben manejarse con precaución para evitar pérdidas de peso durante el proceso (Begg, 1980; Kramer, 1974; Shackel, 1997).

Medición del potencial hídrico (Ψ) por equilibrio de presión

Scholander *et al.* (1965) diseñaron un método consistente en introducir una hoja o un fragmento de rama dentro de una cámara de presión herméticamente cerrada, con la parte seccionada fuera de ella. La presión de un gas (generalmente nitrógeno) se aplica al vástago hasta que aparece el fluido del xilema en la superficie del corte. La base teórica de este método es considerar que la presión ejercida para impulsar el agua de las células foliares, hacia el xilema, es igual al Ψ de las células foliares (Kramer, 1974). Cabe mencionar que los tallos o pecíolos deben ser suficientemente fuertes para poder ser fijados en el empaque sostenedor de la cámara de presión. Este método es útil para una variedad de propósitos; sin embargo, al ser un método destructivo, su confiabilidad para cualquier especie vegetal debe compararse con otros métodos, como el psicrómetro (Rodríguez-Pérez, 2006).

Método para estimar el potencial osmótico (π) mediante las curvas presión-volumen

El Ψ en laboratorio se determina de manera estacional y es útil para la determinación del π y del Pt. Dichos

parámetros se determinan con el análisis gráfico de las curvas presión-volumen. Para la obtención de dichas curvas, deben realizarse los siguientes pasos secuenciales:

(1) Corte de hoja con pecíolo, trifolio o tallo con hojas, empleando bisturí o navaja, debidamente afilados para realizar un corte preciso. (2) Transporte de hojas al laboratorio, dentro de un recipiente empleado como cámara húmeda, para evitar pérdida de agua por transpiración y abatimientos drásticos del CRA o de Ψ del material vegetal. Antes de someter las muestras a imbibición (turgencia total), se corta nuevamente el pecíolo bajo el agua para evitar embolismo. (3) Imbibición de las hojas colocando el pecíolo sumergido en agua destilada en frascos apropiados, hasta alcanzar la saturación o turgencia total (Fanjul y Barradas, 1987). El tiempo de inmersión del pecíolo se determina en base a ensayos previos para pesar las hojas cada hora después de la inmersión del pecíolo. El peso constante de la hoja puede lograrse a las 24 horas, aunque esto varía según la especie. La determinación del Ψ y sus componentes se realizan inmediatamente después de haber alcanzado la máxima turgencia. (4) Una vez transcurrido el tiempo de saturación, se pesa cada hoja en una balanza analítica y se coloca en la cámara de presión con las debidas precauciones para no dañar el pecíolo. Previamente se coloca en el fondo de la cámara un papel absorbente humedecido para evitar el abatimiento del Ψ que pudiera ocurrir a consecuencia de la disminución de la humedad relativa. (5) Se aumenta gradualmente la presión del gas (N_2) dentro de la cámara hasta que aparece en la superficie cortada del pecíolo una gota o conjunto de microgotas de agua, debiéndose observar y registrar la presión aplicada a la que emergió dicha gota. (6) Posteriormente se extrae la hoja de la cámara y se pesa nuevamente, así se obtienen dos pesos en cada medición, para calcular los valores de CRA o DH. (7) Se permite que transcurran dos minutos para equilibrar el Ψ interno de la hoja y se repite el método desde el paso 4 hasta llegar a un Ψ bajo y constante o que deje de disminuir ante iguales incrementos de la presión aplicada (Shackel, 1997). Para determinar la resistencia estomática y el Ψ en hojas expandidas de la especie en estudio, las hojas se toman al azar de una parte predefinida, por ejemplo de la parte subapical del dosel (De Gouveia y Marin-Ch., 2001).

Los valores del Ψ abatido pueden oscilar entre -6.5 y -7.0 Mpa, aunque tal intervalo varía según la especie en estudio. Lo anterior se verifica cuando la curva del Ψ adquiere una tendencia asintótica con el eje de las abscisas, lo que significa que en tal segmento de la curva el π_t es el único componente de Ψ al tornarse el Pt igual a cero. La tendencia se verifica midiendo tres veces para obtener suficientes puntos para trazar la gráfica de regresión lineal para el cálculo de π_n^{100} y π_n^0 . (8) Cuando Pt alcanza un valor igual o cercano a cero, las hojas se pesan (último peso fresco) y se secan en horno a temperatura entre 70 y 80 °C (comúnmente durante 24 h) hasta peso constante. Con este peso y los

anteriores se calculan CRA y DH (Shackel, 1997).

Métodos alternativos para la evaluación de los efectos de la sequía

Además de los tratamientos de sequía y de estrategias que incluyen períodos de desecación, se emplean substancias que disminuyen el Ψ_s en una solución, simulando una sequía, como el compuesto glicol de polietileno o polietilenglicol (PEG). Zgallaï (2006) indujo estrés hídrico en tomate añadiendo PEG (PEG 6,000) a la solución nutriente para reducir el π (también referido con el símbolo Ψ_s) durante la aplicación de estrés hídrico. Los valores de Ψ_s moderados y severos (- 0.51 y - MPa 1.22, respectivamente) disminuyeron el Ψ_{hoja} en las plantas estresadas, al compararlas con las plantas control, ocurriendo una reducción mayor en las plantas más estresadas.

Dificultades metodológicas

Al utilizar el método descrito deben considerarse que diferentes aspectos como la edad de la hoja y su posición en la planta pueden causar variación y error. En algunos casos, la inconsistencia en los resultados pudiera deberse al uso de una variable inadecuada; Neciosup-Gallardo *et al.* (1996) observaron que la variable AOC (ajuste osmótico constitutivo) responde más a cambios ambientales que a un factor genético, por lo que esta variable puede no ser del todo efectiva; encontraron inconsistencia en la relación AOC y AOI (ajuste osmótico inducido); al compararlas bajo condiciones de campo (sequía) y en invernadero, dichas variables no mostraron correspondencia. Los componentes de la variación en la conductancia hidráulica en plantas incluyen el intercambio de agua entre el flujo de transpiración y los compartimentos internos de almacenaje vía descarga, también la recarga, la cavitación y su receso, la reposición hídrica, cambios de temperatura inducidos por la viscosidad del agua y efectos de la composición del fluido del xilema sobre sus propios atributos hidráulicos. Por lo anterior, es claro que son varios los tejidos y órganos vegetales que deben evaluarse en su condición hídrica, para obtener una imagen válida de la planta completa. La variación endógena es también crucial en la respuesta de la planta (Meinzer, 2002).

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Trazo de las curvas presión-volumen (P-V) y su significado

Las curvas P-V se grafican con el inverso del Ψ en el eje de las ordenadas, el CRA o DH sobre el eje de las abscisas. El DH para la construcción de la curva se calcula con la ecuación 3. El empleo del inverso de Ψ y no su valor directo, obedece a que se obtiene una curva con mejor

resolución y de mayor utilidad para el análisis gráfico del Ψ . Mediante dicho método gráfico se determina el valor o intervalo crítico del DH en el cual puede inferirse plasmólisis. Tal intervalo crítico en el que ocurre la pérdida de turgencia no se detecta claramente en la curva original de Ψ . En la Figura 1, la curva de abatimiento del inverso de Ψ consta de dos segmentos: en la primera sección de la curva (Sección I), Ψ está determinado por π y P_t , y se describe con suficiente resolución numérica por una función potencia negativa ($Y = aX^{-b}$). En el intervalo diferencial de la curva donde el cambio de pendiente es súbito tornándose asíntotica en la segunda sección (Sección II), se infiere plasmólisis incipiente, estimándose que P_t tiende a cero (pérdida de turgencia). Por lo anterior, en la sección II de la curva, Ψ depende únicamente de los valores de π , aproximándose a una relación lineal (puntos A, B, C, D y E). Dada la relación directa entre los inversos $1/\Psi$ y $1/\pi$ es factible estimar los valores de π a cualquier DH o CRA, por la extrapolación gráfica del segmento II, hasta interceptar los ejes de las ordenadas y de las abscisas. La intersección del segmento extrapolado con el eje de las ordenadas proporciona el valor de π a turgencia total (π_{100}). El valor de π al inicio de la plasmólisis se obtiene al interceptar una recta paralela desde el punto medio del cambio de la pendiente de la curva con el eje de las ordenadas. El π del tejido foliar se estima de manera gráfico-analítica; al relacionar el abatimiento del Ψ con la pérdida de masa hídrica, se infiere que π puede calcularse en función de Ψ y del peso en el intervalo de variación de CRA o DH. Por último, el P_t se calcula con Ψ y π (Ecuación 1).

Consideraciones metodológicas

Al utilizar la bomba de presión se espera que refleje la presión del fluido del xilema que tenía la muestra al momento de ser seccionada. La presión mediante la cual la savia emerge a través del extremo de la rama es equivalente a la presión negativa que existió en la planta cuando la muestra fue cortada. Por tanto, se acepta que la exactitud de la bomba de presión es alta. Sin embargo, algunos factores influyen en la exactitud, por ejemplo, la pérdida de agua por evaporación desde la rama o vástago debe ser evitada. Debe mantenerse la humedad alrededor de la muestra y el agua dentro del tejido de la planta antes de que se tome la lectura para evitar pérdida de turgencia dentro de las hojas, de lo contrario se obtendrá una lectura incorrecta. El tamaño de la hoja o rama debe ser proporcional al tamaño de la cámara de presión para evitar un nuevo corte o cierta compactación debida a un ajuste volumétrico. Para aumentar el nivel de la exactitud debe tomarse una cantidad de muestras significativa; cuanto mayor es el número de muestras, más alta es la exactitud. La rapidez en el muestreo da lugar a niveles mayores de exactitud. En caso de usar hielo para mantener el tejido vegetal fresco y evitar pérdida de humedad, el hielo no debe tocar la muestra porque puede dañar la membrana, lo cual produce lecturas inexactas. El tiempo de exposición de las ramas durante el día afecta de manera

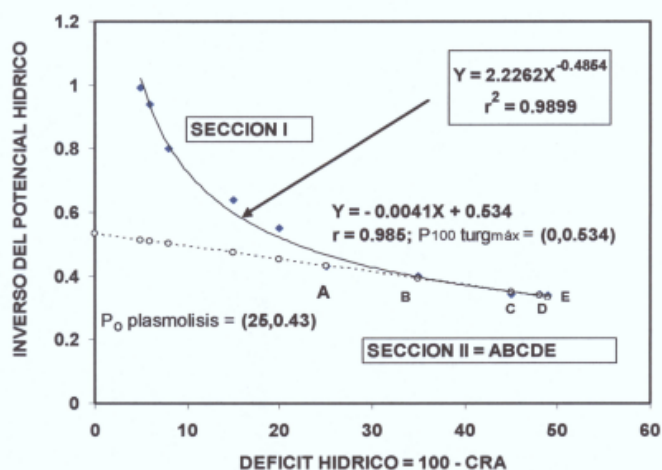


FIGURA 1. Curva presión-volumen hipotética en la que se muestra la extrapolación de valores típicos de diferentes parámetros hídricos de una hoja.

significativa la exactitud porque hay mayor variación en el Ψ de la hoja durante la mañana que al mediodía. Es esencial coleccionar muestras sanas, libres de enfermedades e insectos, sin daños mecánicos ni otro tipo de daños.

CONCLUSIONES

Los métodos fisiotécnicos son herramientas de suma utilidad para el estudio de plantas en ambientes desfavorables. Diversas consideraciones deben anticiparse para que su aplicación redunde en información útil para la elaboración de conclusiones válidas en investigación básica o aplicada. Debe preverse una valoración precisa acerca de la fisiología de la planta, incluyendo la edad de la misma, época y hora de medición, estado de sanidad y funcionamiento de la planta completa, así como la precisión de los instrumentos. En cuanto a la medición del Ψ , a partir de resultados observados en vid (Shackel, 1997), se ha confirmado que: (1) el Ψ se puede medir de manera confiable al utilizar el método de la cámara, colocando la muestra de hoja o rama al mediodía (Ψ del vástago al mediodía), y (2) el rendimiento y la rentabilidad económica parecen beneficiarse a partir de un moderado Ψ , al estar avanzada la época de crecimiento, cuando la producción de fruta no se afecta, dado que puede mejorarse el cociente de hidratación de frutos o semillas. La reducción del uso del agua, o bien su optimización, debe ser parte de las metas de todo proyecto de mejoramiento del uso del agua, de modo que uno de los objetivos principales del diseño y operación de sistemas de riego debe incluir la reducción al mínimo posible del agua aplicada sin causar efectos perjudiciales sobre el rendimiento o producción económica. Existen aspectos de la sequía aún por investigar; a nivel planta debe explorarse la relación entre las respuestas de la hoja y las del dosel (Salleo *et al.*, 2000; Shackel, 1997). Aunque los mecanismos

que controlan el aparato estomático siguen sin ser aclarados, al estudiar la respuesta de las plantas al estrés ambiental se reconocen procesos por los cuales las plantas se adaptan y soportan los cambios que ocurren en su Ψ por escasez de agua o salinidad. El cierre estomático evita la reducción del Ψ e involucra ajustes fisiológicos y metabólicos, cuyo mecanismo aún está por dilucidarse. La selección de plantas para una alta producción de biomasa bajo condiciones de sequía requiere del balance entre la maximización de la asimilación de C (lo que requiere valores elevados de área foliar y conductancia estomática), y/o la minimización de la transpiración para el mantenimiento de un alto CRA de la hoja (lo que requiere reducida área foliar y baja conductancia estomática) (Teulat *et al.*, 1997).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (Proyecto ZA-3.2), el CONACYT, Proyecto CONACYT-CONAFOR 2004-C04-03, CIBNOR 02-C Sectorial SAGARPA 480, y por la Fundación Produce (Pr. "Análisis de Indicadores Agroecológicos e Hidrológicos"). Se realizó en colaboración con la Universidad Autónoma de Zacatecas y la Universidad de Sonora, Unidad Santa Ana.

LITERATURA CITADA

- AL-YAHYAI, R.; SCHAFFER, B.; DAVIES, F. S. 2005. Physiological responses of 'carambola' trees to soil water depletion. *HortScience* 40(7): 2145-2150.
- ANYIA, A. O.; HERZOG, H. 2004. Genotypic variability in drought performance and recovery in cowpea under controlled environment. *J Agron Crop Sci.* 190: 151-159.
- BEGG, J. E.; TURNER, N. C. 1970. Water potential gradients in field tobacco. *Plant Physiol.* 46: 343-346.
- BEGG, J. E. 1980. Morphological adaptation of leaves to water stress. *In: TURNER, N. C. y KRAMER, P. J. (Eds.) Adaptations of Plants to Water and High Temperature Stress*, John Wiley and Sons. New York. USA. pp. 7-20.
- BRYLA, D. R.; DICKSON, E.; SHENK, R.; JOHNSON, R. C. 2005. Influence of irrigation method and scheduling on patterns of soil and tree water status and its relation to yield and fruit quality in peach. *HortScience* 40: 1936-2214.
- BUSTAMANTE-ORAÑEGUI, J. D.; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, V. A.; LIVERA-MUÑOZ, M.; ZAVALETA-MEJÍA, E. 1999. Cambios fisiológicos y microclimáticos inducidos en jitomate por una cubierta flotante. *Agrociencia* 33(1): 31-39.
- CONFALONE, A.; NAVARRO-DUJMOVICH, M. 1999. Influencia do "déficit" hídrico sobre a eficiencia da radiação solar em soja. *Rev. Bras. de Agrociencia* 5(3).
- DE GOUVEIA, M.; MARÍN-CH., D. 2001. Una comparación agroecológica de canavalia (*Canavalia ensiformis* (L.)) y soya (*Glycine max* (L.)). II. Potencial hídrico, conductividad estomática y distribución de raíces. *Rev. F Agron (LUZ)* 18: 187-200.
- ELSE, M. A.; DAVIES, W. J.; MALONE, M.; JACKSON, M. B. 1995. A negative hydraulic message from oxygen-deficient roots of tomato plants? Influence of soil flooding on leaf water potential, leaf expansion, and synchrony between stomatal conductance and root hydraulic conductivity. *Plant Physiol.* 109: 1017-1024.
- FANJUL, L.; BARRADAS, V. 1987. Diurnal and seasonal variation in the water relations of some deciduous and evergreen trees in a deciduous dry forest of the western Mexico. *Jour. of Appl. Ecol.* 24: 289-303.
- FITTER, A. H.; HAY, R. K. M. 2002. *Environmental physiology of plants*, 3rd Edition. Academic Press, London. UK. 423 pp.
- FRANKS, P. J. 2006. Higher rates of leaf gas exchange are associated with higher leaf hydrodynamic pressure gradients. *Plant, Cell and Environm.* 29: 584-592.
- KOIDE, R. T.; ROBICHAUX, R.; MOUSE, S. R.; SMITH, C. M. 1991. Plant water status, hydraulic resistance and capacitance. *In: PEARCY, R. W.; EHLERINGER, J.; MOONEY, H. A.; RUNDELL, P. W. (Eds.). Plant physiological ecology, field methods and instrumentation*. Chapman & Hall. New Cork, USA. 472 pp.
- KRAMER, P. J. 1974. *Relaciones hídricas de Suelos y Plantas*. Edutex, S. A. México.
- LEVITT, J. 1980. *Responses of plants to environmental stresses*. Vol. II. Water, radiation, salts and other stresses. 2nd Ed. Acad. Press. New York, USA. 606 pp.
- LI, Y.; FUCHS, M.; COHEN, S.; COHEN, Y.; WALLACH, R. 2002. Water uptake profile response of corn to soil moisture depletion. *Plant, Cell and Environm.* 25: 491-500.
- LISSARRAGUE, J. R.; RUIZ, C.; BARTOLOMÉ, C.; BAEZA, P.; SOTÉS, V. 1991. Étude écophysologique des différents expositions de la végétation dans les systèmes de conduite en gobelet et en espalier. *Riv. Vitic. Enol.* 4: 133-141.
- MEINZER, F. C. 2002. Coordination of vapour and liquid phase water transport properties in plants. *Plant, Cell and Environm.* 25: 265-274.
- MORA-AGUILAR, R.; IRETA-HERNANDEZ, M. F.; RODRIGUEZ-PEREZ, J. E.; MARTINEZ-SOLIS, J. 2006. Acondicionamiento osmótico en semilla de *Brassica oleracea* L. *Revista Chapingo. Serie Horticultura* 12(1): 105-112.
- NAOR, A.; COHEN, S. 2003. Sensitivity and variability of maximum trunk shrinkage, midday stem water potential, and transpiration rate in response to withholding irrigation from field-grown apple trees. *HortScience* 38(4): 547-551.
- NECIOSUP-GALLARDO, J. A.; RODRÍGUEZ-ONTIVEROS, J. L.; SERRANO-C., L. M.; MIRANDA-COLÍN, S. 1996. Relaciones entre ajuste osmótico constitutivo y ajuste osmótico inducido en frijol. *Rev. Fitotec. Mex.* 19: 87-103.
- ORTÍZ-HERNÁNDEZ, Y. D.; LIVERA-MUÑOZ, M.; COLINAS-LEÓN, M. T.; CARRILLO-SALAZAR, J. A. 1999. Estrés hídrico e intercambio de CO₂ de la pitahaya (*Hylocereus undatus*). *Agrociencia* 33(4): 397-405.
- PARRA-QUEZADA, R. A.; BECERRIL-ROMAN, A. E.; LOPEZ-CASTAÑEDA, C. 2002. Transpiración, resistencia estomática y potenciales hídricos en manzabo 'Golden Delicious' injertado sobre portainjertos clonales. *Terra Latinoam.* 20(2): 113-121.
- PARRA-QUEZADA, R. A.; RODRÍGUEZ-ONTIVEROS, J. L.; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, V. A. 1999. Transpiración, potencial hídrico y prolina en zarzamora bajo déficit hídrico. *Terra* 17(2): 125-130.
- PRAKASH, M.; RAMACHANDRAN, K. 1999. Effects of chemical ameliorants on stomatal frequency and water relations in brinjal (*Solanum melongena* L.) under moisture stress conditions. *J. Agron. & Crop Sci.* 185: 237-239.
- QIU, G. Y.; OKUSHIMA, L.; SASE, S.; LEE, I. B. 2002. Acoustic emissions in tomato plants under water stress conditions. *JARQ* 36(2): 103-109.

- RODRÍGUEZ-GUZMÁN, E.; CARBALLO-CARBALLO, A.; BACA-CASTILLO, G. 1998. Efecto de la presión osmótica en solución nutritiva sobre producción y calidad de semilla de jitomate. *Rev. Fitotec. Mex.* 21: 15-24.
- RODRÍGUEZ-MELLADO, J. M.; MARIN-GALVIN, R. 1999. *Fisicoquímica de aguas*. Ediciones Díaz de Santos. Córdoba, Argentina. 466 pp.
- RODRÍGUEZ-PÉREZ, L. 2006. Implicaciones fisiológicas de la osmorregulación en plantas. *Agronomía Colombiana* 24(1): 28-37.
- SALLEO, S.; NARDINI, A.; PITT, F.; LO GULLO, M. A. 2000. Xylem cavitation and hydraulic control of stomatal conductance in laurel (*Laurus nobilis* L.) *Plant, Cell and Environm.* 23: 71-79.
- SHACKEL, K. 1997. Plant water status as an index of irrigation need in deciduous fruit trees. *HortTechnology* 7(1): 23-29.
- SCHOLANDER, P. F.; HEMMINGSEN, E.; GAREY, W. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Science* 148: 339-346.
- SCHULTZ, H. R. 2003. Differences in hydraulic architecture account for nearisohydric and anisohydric behaviour of two field-grown *Vitis vinifera* L. cultivars during drought. *Plant, Cell and Environm.* 26: 1393-1405.
- TEULAT, B.; P. MONNEVEUX, P.; WERY, J.; C. BORRIES, C.; SOUYRIS, I.; CHARRIER, A. 1997. Relationships between relative water content and growth parameters under water stress in barley: a QTL study. *New Phytol.* 137: 99-107.
- TURNER, N. C.; SPURWAY, R. A.; SCHULZE, E. D. 1984. Comparison of water potentials measured by *in situ* psychrometry and pressure chamber in morphologically different species. *Plant Physiol.* 74: 316-319.
- WARWICK, N. W. M.; THUKTEN, T. 2006. Water relations of phyllodinous and non-phyllodinous *Acacias*, with particular reference to osmotic adjustment. *Physiologia Plantarum* 127: 393-403.
- ZGALLAÏ, H.; STEPPE, K.; LEMEUR, R. 2006. Effects of different levels of water stress on leaf water potential, stomatal resistance, protein and chlorophyll content and certain anti-oxidative enzymes in tomato plants. *J. Integr. Pl. Biol.* 48(6): 679-685.