

Fundada en 1951 por Founded in 1951 by
Miguel Raggio & Nora Moro de Raggio
Editor-in-Chief: Dr. Carlos A. Busso

FUNDACION ROMULO RAGGIO
Gaspar Campos 861, 1638 Vicente López (BA), Argentina
www.revistaphyton.fund-romuloraggio.org.ar
ISSN 0031-9457

57° ANIVERSARIO

(2008) 77: 327-350

57th ANNIVERSARY

REVISIÓN

Uso de la cámara de presión y los psicrómetros a termocupla en la determinación de las relaciones hídricas en tejidos vegetales

Use of the pressure chamber and thermocouple psychrometers to determine the water relations of plant tissues

Busso CA

Resumen. En este trabajo se discuten las ventajas, desventajas y precauciones en la utilización de la cámara de presión y los psicrómetros a termocupla para medir el potencial hídrico y las presiones, osmótica y de turgencia, de tejidos vegetales. La comparación de los resultados obtenidos con los dos instrumentos puede ser afectada por la técnica utilizada en el muestreo, el grado de consistencia en el muestreo y en el procedimiento de medición, y errores inherentes al método mismo. Las mediciones de potencial hídrico bajo condiciones de campo en las plantas o en el suelo con psicrómetros a termocupla son probablemente inútiles, o aún peor, pueden ser falsas. El uso de los psicrómetros a termocupla está estrictamente limitado a condiciones de laboratorio, donde se puede trabajar bajo condiciones isotérmicas. El método a utilizar para determinar las relaciones hídricas de los tejidos vegetales debe elegirse de acuerdo al material vegetal y al propósito de la investigación.

Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur y Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS, CONICET), San Andrés 800, 8000 - Bahía Blanca, Argentina. Tel: +54 291 4595102. Fax: +54 291 4595127.

Address Correspondence to: Dr. Carlos A. Busso. e-mail: cebusso@criba.edu.ar, carlosbussol@gmail.com

Palabras clave: cámara de presión, psicrómetros a termocupla, curvas Presión-Volumen, potencial hídrico, presiones osmótica y de turgencia.

Resumen. Advantages, disadvantages and precautions of using the pressure chamber and thermocouple psychrometers for determinations of plant water potential, and osmotic and turgor pressures are discussed. Comparison of results obtained with both instruments will be influenced by the sampling technique, consistency in both sampling and measurement procedures, and errors inherent to the method itself. *In-situ* readings of either plant or soil water potential with thermocouple psychrometers are perhaps worthless, or worse (they may even be misleading). Use of thermocouple psychrometers is strictly limited to the laboratory where isothermal conditions can be obtained. The method to determine the water relations of plant tissues should be chosen according to the plant material and the research objectives.

Key words: pressure chamber, thermocouple psychrometers, Pressure-Volume curves, water potential, osmotic and turgor pressures.

INTRODUCCIÓN

La cámara de presión (Scholander et al., 1965, 1966) y los psicrómetros a termocupla (Spanner, 1951; Richards y Ogata, 1958) son dos instrumentos utilizados frecuentemente en la determinación del potencial hídrico y de las presiones osmótica y de turgencia de los tejidos vegetales (Kirkham, 2005; Geitmann, 2006). El uso de una u otra técnica tiene ventajas y desventajas. El propósito de esta publicación es revisar la conveniencia y las limitaciones del uso de estos instrumentos en el estudio de las relaciones hídricas de los tejidos vegetales. También se efectuará una comparación de los resultados obtenidos con una y otra técnica.

POTENCIAL HÍDRICO TOTAL

La cámara de presión da una medida de la presión hidrostática negativa que se produce en el xilema de una planta intacta debido a la evaporación de agua desde el tejido por transpiración y a las resistencias al movimiento del agua desde el suelo hasta el tejido (Scholander et al., 1965). El potencial hídrico estimado con la cámara de presión es el valor negativo

de la presión requerida para comenzar a obtener líquido en la superficie expuesta del xilema a presión atmosférica (Boyer, 1967; Ritchie y Hinckley, 1975; Campbell, 1985; Turner, 1987; Kirkham, 2005). Los psicrómetros a termocupla miden la presión de vapor de equilibrio que existe entre el aire y una muestra determinada colocada dentro de una cámara psicrométrica (Brown, 1970; Campbell, 1985; Boyer, 1987). La presión de vapor se puede medir utilizando la técnica psicrométrica (Spanner, 1951; Richards y Ogata, 1958) o del punto de rocío (Neumann y Thurtell, 1972).

Ventajas, limitaciones y precauciones en el uso de la cámara de presión. La cámara de presión es el método más simple y rápido (se necesitan aproximadamente 5 min/muestra: Kirkham, 2005), y quizás el único método práctico en condiciones de campo, para estimar el potencial hídrico de las hojas (Boyer, 1967; Turner, 1981; Kikuta et al., 1985; Kirkham, 1985, 2005; Spomer, 1985; Casper et al., 2006). Este instrumento también se puede usar para (1) determinar (indirectamente) el potencial hídrico del suelo en la zona radical (Faiz, 1983), y (2) obtener solución desde el tallo para determinar en ésta si elementos contaminantes, producidos por diversas industrias, han sido absorbidos por la planta (Kirkham, 2005). Su precisión es de 0,02-0,05 MPa, aunque esto en parte depende de la especie y del potencial hídrico de la muestra (Campbell, 1985). Algunas cámaras pueden medir hasta tres muestras en forma simultánea (Turner, 1987). El equipo requerido está disponible comercialmente (Turner, 1981, 1987; Kirkham, 1985; Campbell, 1985), no es costoso, no requiere control de la temperatura, es portátil y resulta de fácil uso en el campo (Turner, 1981; Spomer, 1985). Ritchie y Hinckley (1975) y Turner (1987) proveen una descripción del equipo y del procedimiento a seguir en la determinación del potencial hídrico en tejidos vegetales.

La teoría respecto al uso de la cámara de presión predice una relación 1:1 entre la transmisión de presión desde el gas comprimido dentro de la cámara y el fluido xilemático cuando las hojas de una especie comienzan con una presión de balance de cero. La posibilidad de la no existencia de ésta relación deja dudas en el uso de la cámara de presión para mediciones del potencial hídrico del xilema en las plantas. Wei et al. (2000) demostraron que la no obtención de relaciones 1:1 fue debido a la compresión de burbujas de aire en los vasos del xilema con embolismo, a la evaporación de agua desde el tejido, y a la expansión del segmento de tallo expuesto (o pecíolo) en el tapón de la cámara de presión en ramas de *Tsuga canadensis* y hojas de *Nicotiana rustica*. La relación 1:1 esperada se puede obtener cuando se elimina el embolismo en el xilema y se previene la expansión del tallo expuesto fuera de dicho tapón (Wei et al., 2000).

Passioura (1987) ha descripto una técnica para efectuar mediciones continuas de presión en la solución xilemática del tallo en plantas intactas que están transpirando con rapidez. Esta técnica, que sólo es adecuada para efectuar mediciones en plantas que crecen bajo condiciones de laboratorio, también permite mantener hojas a altos potenciales hídricos mientras existen condiciones de déficit hídrico o salinidad en el suelo. De esta manera, se pueden estudiar los efectos diferenciales de los potenciales hídricos de la raíz y del tallo en la respuesta de la planta ya que no existe el nexo que normalmente hay entre ambos. Las mediciones de potencial hídrico pueden ser efectuadas por personal con un bajo nivel de capacitación (Kirkham, 1985) aunque se necesita un cierto nivel de entrenamiento para efectuar mediciones confiables (Spomer, 1985).

La cámara de presión no provee una medida directa de potencial hídrico debido a que no tiene en cuenta la presión osmótica de la solución que se encuentra en los elementos de conducción (Spomer, 1985). Generalmente, la presión osmótica en los vasos de conducción es menor de 0.1 MPa (Turner, 1981; Kirkham, 2005). En estas circunstancias, las mediciones de potencial hídrico en las hojas se pueden efectuar sin necesidad de preocuparnos de la presión osmótica (Turner, 1981; Kirkham, 1985, 2005). Cuando las plantas están expuestas a condiciones de estrés hídrico, y los potenciales hídricos de las hojas llegan a -3; -3,5 MPa, la presión osmótica en los vasos de conducción puede ser de hasta -0,2 MPa (Kirkham, 2005). De ésta forma, las mediciones del potencial hídrico en los vasos de conducción con la cámara de presión están dentro del error de comparación con los valores obtenidos usando psicrómetros a termocupla ($\pm 0,2$ MPa). Además, Ritchie y Hinckley (1975) aconsejan la medición del componente osmótico cuando se determina el potencial hídrico con la cámara de presión, principalmente en plantas que crecen en medios salinos donde la presión osmótica puede alcanzar valores considerables.

El tejido se debe encontrar en condiciones de equilibrio de potencial hídrico para efectuar una estimación adecuada de su potencial hídrico promedio (Meiri et al., 1975). Fulton et al. (2001) informaron que la cobertura de una hoja en la planta con una bolsa reflexiva, impermeable al agua asegura que se alcancen condiciones de equilibrio entre la hoja que no está transpirando y el tallo. Sin embargo, el cubrir la hoja por 1 a 2 horas antes de la medición del potencial hídrico del tallo ha limitado la adopción de ésta técnica de manejo del riego por los agricultores. Una segunda limitante ha sido que el requerimiento de determinaciones a media tarde limita el área que puede ser muestreada por una persona con una cámara de presión. Estos autores han informado nuevos procedimientos a partir de estudios a campo en almendros (*Prunus dulces*), ciruelos (*P. domestica*) y nogales

(*Juglans regia*) para medir el potencial hídrico a mediodía, haciendo que la cámara de presión se convierta en un instrumento de medición más conveniente y práctico para el manejo del riego. Para muestreos de rutina y programación del riego, un período de equilibrio de 10 min. o más parece ser adecuado para proveer mediciones adecuadas de potencial hídrico del tallo. Sin embargo, la cámara de presión tiende a medir el potencial hídrico de la parte más húmeda del tejido cuando la transpiración es rápida en la planta, y en el corto intervalo de tiempo que lleva hacer una medición (Meiri et al., 1975; Turner et al., 1984; Campbell, 1985; Turner, 1987). La rapidez con la cual se alcanza el equilibrio entre los potenciales hídricos del xilema y las células foliares, sin embargo, puede variar entre especies (Boyer, 1967). El problema es aún mayor en la determinación del potencial hídrico en raíces debido al aislamiento del cilindro vascular por la endodermis (Turner, 1987). Otro inconveniente es la existencia de gradientes de potencial hídrico dentro de la hoja en la planta intacta (Westgate y Boyer, 1984; Barlow, 1986).

La cámara de presión no es muy adecuada para efectuar mediciones en plantas pequeñas aunque recientemente se ha diseñado una para uso en especies de hojas chicas (Powell y Coggins, 1985); ésta nueva cámara posee características que permiten mejorar la velocidad y la exactitud de las mediciones. Una cierta cantidad de tejido debe atravesar el tapón de la cámara y otra cantidad debe quedar expuesta a las condiciones ambientales externas a la cámara durante la medición (Spomer, 1985). El daño ocasionado por el tapón no permite su uso en tejidos tiernos (por ejemplo, hojas jóvenes en especies de gramíneas) (Kirkham, 1985). La cantidad de tejido expuesto fuera de la cámara debe ser minimizada durante la medición (Ritchie y Hinckley, 1975; Ike et al., 1978; Spomer, 1985; Turner, 1987). Esto reducirá la posibilidad que una mayor cantidad de tejido expuesto se llene de agua durante la aplicación de presión, cuando éste tejido no se encontraba en esas condiciones en la planta.

La necesidad de transportar un tanque con aire a alta presión para la operación de la cámara, y el hecho de que el equipo es de por sí pesado, pueden contribuir a desalentar su uso (Kirkham, 2005). Sin embargo, Powell y Coggins (1985) han descrito recientemente una cámara de presión portátil y liviana. La disponibilidad de aire a alta presión puede llegar a limitar el número de mediciones a efectuar bajo condiciones de campo (Kirkham, 1985).

Otra fuente de error en la determinación del potencial hídrico es la dificultad de determinar con exactitud la presión de equilibrio (Spomer, 1985). El aire que introducimos en la cámara puede pasar por los espacios intercelulares del tejido (Mc Cown y Wall, 1979; Turner, 1981) determi-

nando la salida de agua, resina o látex desde posiciones externas al xilema y dando como consecuencia una lectura incorrecta (ej. Spomer, 1985; Barrett y Nell, 1986; Turner, 1987). En especies de coníferas se recomienda no dañar la base de las agujas en el muestreo para minimizar la exudación de resina (Ritchie y Hinckley, 1975). Además, la presencia de espacios vacíos en el tejido de conducción en la planta intacta puede determinar la necesidad de mayores presiones para obtener líquido en la superficie de corte debido a que el agua tenderá a llenar esos espacios durante la presurización (Kaufmann, 1968; Hardegee, 1987).

Una vez obtenido el punto de equilibrio, deberíamos permitir que el agua regrese al xilema dejando escapar un poco de la presión interna a la cámara (Campbell, 1985). Posteriormente, debemos ejercer presión nuevamente y efectuar una segunda lectura. Si la medición ha sido correcta, esta segunda lectura se aproximará en $\pm 0,03-0,05$ MPa a la primera. De lo contrario debemos efectuar una tercera observación. Si los valores se incrementan en cada lectura sucesiva obtendremos una indicación de que el tejido está perdiendo agua. Si en cambio son más bajos que los observados en un comienzo, nos indicará que el tejido no se encontraba en condiciones de equilibrio durante la primera medición.

La experiencia, la utilización de lentes de aumento (ej. de microscopios utilizados para disecar tejidos vegetales) y de buenas condiciones de luminosidad, y el uso de bajas tasas de presurización (no mayores que 0,006 MPa/s: Waring y Cleary, 1967; Ritchie y Hinckley, 1975; Brown y Tanner, 1981; Turner, 1981, 1987; Kikuta et al., 1985; Kirkham, 1985, 2005; Spomer, 1985) se han recomendado para efectuar una lectura correcta (Turner, 1981; Campbell, 1985; Spomer, 1985). Tapones de compresión de la muestra y medidores de conductividad se han utilizado para facilitar el reconocimiento de una lectura adecuada (Richter y Rottenburg, 1971 citado en Ritchie y Hinckley, 1975; Mc Cown y Wall, 1979). La compresión del xilema, sin embargo, no debe ser excesiva para evitar una gran resistencia al flujo de solución (Ritchie y Hinckley, 1975).

Bajas tasas de presurización son recomendables a fin de disminuir los incrementos de temperatura en el interior de la cámara durante la aplicación de presión (Spomer, 1985). Aumentos de la temperatura pueden incrementar (i) la presión osmótica ya que hay una relación directa entre la presión osmótica y la temperatura, (ii) la concentración de solutos debido a un incremento en las tasas metabólicas a mayor temperatura y (iii) la tasa de transpiración si las mediciones son de una duración prolongada (Ritchie y Hinckley, 1975). Hay cámaras (ej. Powell y Coggins, 1985) que permiten observar la tasa de incremento de la presión lo que puede ayudar a evitar un calentamiento excesivo.

Las tasas de presurización también deben ser reducidas para evitar la creación de gradientes de potencial hídrico en el tejido (Spomer, 1985). Sin embargo, las tasas de presurización se deberían determinar empíricamente para cada situación (Spomer, 1985). Cambios de la tasa de incremento de la presión en *Picea sitchensis*, por ejemplo, no variaron los valores de potencial hídrico finales (Hellkvist et al., 1974).

La pérdida de agua que ocurre desde hojas que están transpirando con rapidez se debe prevenir luego de su separación de la planta, especialmente en tejidos que tengan paredes celulares rígidas (Baughn y Tanner, 1976a; Wenkert et al., 1978; Turner y Long, 1980; Turner, 1981, 1987; Leach et al., 1982; Kirkham, 1985; Spomer, 1985; Campbell, 1985). Para reducir estas pérdidas de agua se han utilizado varios materiales para cubrir la hoja desde antes de su separación de la planta y durante la medición: papel de aluminio, bolsas de polietileno, plástico adhesivo, tela húmeda o una combinación de estos materiales (Gandar y Tanner, 1975; Meyer y Ritchie, 1980; Turner y Long, 1980; Leach et al., 1982; Meyer y Reicosky, 1985). Sin embargo, Kirkham (2005) informó que el uso de telas húmedas podría proveer agua a la muestra y resultar en una determinación errónea. Se ha efectuado también la separación del tejido de la planta dentro de una caja humidificada con buenos resultados (Oosterhuis y Wullschleger, 1987). Además, la pérdida de agua se puede minimizar si el tejido permanece en la cámara de presión desde antes de ser cortado y hasta después de su medición (Powell y Coggins, 1985).

Los errores por pérdida de agua, que pueden ser mayores a altos potenciales hídricos del tejido (Ritchie y Hinckley, 1975; Baughn y Tanner, 1976b; Campbell, 1985), pueden ser minimizados si la hoja se mide lo más rápido posible luego de su separación de la planta (Baughn y Tanner, 1976a). Ferreyra et al. (2007), por ejemplo, informaron que el potencial hídrico del tallo se debería medir antes de 1 min. luego que la hoja fue cortada del tallo en plantas del árbol *Persea americana* Mill. Sin embargo, el almacenamiento de las muestras puede ser necesario cuando se efectúan muestreos a intervalos regulares y/o a distintos niveles en una canopia. En estos casos, es conveniente mantener las muestras en condiciones frías y a la sombra (Hellkvist et al., 1974). Las mediciones de potencial hídrico en coníferas pueden tener errores muy pequeños aún cuando éstas se demoren unos minutos después de la separación del tejido de la planta (Waring y Cleary, 1967; Ritchie y Hinckley, 1971). Esta respuesta probablemente se debe a que la resistencia de las hojas de las coníferas a la pérdida de agua es generalmente varias veces mayor que aquella en plantas deciduas (Gates, 1968). En resumen, la tasa de transpiración, las características de retención de agua del tejido, el potencial hídrico de las hojas al momento

del corte, la especie, el objetivo de la investigación, y las características bióticas y abióticas en las cuales estuvo creciendo la planta pueden influenciar la magnitud del error en la medición del potencial hídrico cuando no se previene la pérdida de agua desde el tejido (Turner y Long, 1980).

Generalmente se han recomendado la humidificación del aire que entra a la cámara de presión y la cobertura de las paredes internas de la cámara con papel húmedo para disminuir los efectos de la pérdida de agua desde el tejido en las determinaciones de potencial hídrico (Boyer, 1967; Meiri et al., 1975; Ritchie y Hinckley, 1975; Spomer, 1985). Sin embargo, Wenkert et al. (1978), en hojas de *Glycine max*, y Leach et al. (1982), en hojas de *Triticum aestivum* y *Hordeum vulgare*, no observaron una disminución en la desecación del tejido a pesar que el aire entrante en la cámara o la cámara misma fueron humedecidos; las hojas no se cubrieron con ningún material durante la medición en estos estudios. Si se cubre el tejido con material plástico y se previene la pérdida de aire desde la cámara durante la medición, la humidificación de la atmósfera dentro de la cámara puede ser innecesaria (Turner, 1981). Grasa siliconada se puede utilizar para asegurar un sellamiento adecuado entre la muestra y el tapón de goma de la cámara (Ritchie y Hinckley, 1975). El pasaje del aire entrante a la cámara por agua no sería necesario en coníferas probablemente debido a la alta resistencia de los tejidos al intercambio de vapor de agua (Ritchie y Hinckley, 1975).

Se ha aconsejado no volver a cortar la hoja o el tallo luego de su separación de la planta a fin de evitar errores en la medición (Ritchie y Hinckley, 1975; Turner, 1981, 1987; Spomer, 1985). Sin embargo, este error es en general pequeño debido a que el agua celular comenzará a llenar el xilema en un rango muy pequeño de presiones (K. Mott, Utah State University, Logan, UT, USA, com. pers.). El error en la determinación dependerá del volumen relativo del xilema y del simplasma (vacuola y citoplasma), de la contribución relativa del apoplasta (elementos del xilema contiguos a la célula) y del simplasma, y de la elasticidad de las células. El error será mayor si el volumen del xilema es grande en relación al volumen del simplasma. La elasticidad de las células determinará la cantidad de agua necesaria para obtener una determinada diferencia de presión.

El potencial hídrico del xilema fue alterado en *Zea mays* L. cv Helix cambiando la intensidad de la luz, controlando el riego, o por la presión del gas aplicado a una masa de suelo (usando una cámara de presión radical) (Wei et al., 1999). Las mediciones de potencial hídrico del xilema medidos con la cámara de presión y la sonda de presión celular concordaron en todo el rango entre 0 y -0.7 MPa (Wei et al., 1999). Los estudios fueron consistentes con la teoría de cohesión-tensión del ascenso de savia en las plantas.

El incrementar la presión con la cámara de presión radical incrementó ligeramente la tasa de evaporación cuando el potencial hídrico en el xilema fue negativo, e incrementó la tasa de flujo de agua a través del tallo cuando el potencial hídrico en el xilema fue positivo y se observó gutación (Wei et al., 1999).

Se deben tomar precauciones (utilización de anteojos de protección) para evitar que los ojos de la persona que está efectuando la medición sean dañados por la posible eyección del tejido (ej. hojas jóvenes en macollas de gramíneas) debido al incremento de presión en la cámara (Turner, 1981; Kirkham, 1985; Spomer, 1985). El muestreo y el procedimiento de medición deben mantenerse consistentes (Spomer, 1985). Las cámaras de presión deben ser controladas periódicamente utilizando presión hidráulica y tener válvulas de seguridad para el escape de excesos de presión (Spomer, 1985). El uso de cámaras de presión de origen comercial es recomendable debido a que éstas han sido controladas y tienen dispositivos de seguridad (Campbell, 1985). Esto minimiza el riesgo de daño a la persona que efectúa las mediciones ya que éste equipo trabaja a altas presiones. Campbell (1985) también aconseja tratar con cuidado los cilindros en que se provee el gas a ser utilizado con la cámara de presión; el gas está comprimido en estos cilindros a una presión de aproximadamente 15 MPa. El uso de gas a altas presiones puede ser peligroso ya que si es combustible, puede producir fuego (Kirkham, 2005). El gas N_2 es no combustible (Kirkham, 2005).

El gas utilizado en la cámara de presión puede ser aire o nitrógeno si se efectúa una sola determinación en cada muestra. Sin embargo, se debe usar nitrógeno o una mezcla de aire y nitrógeno (5-10% de aire comprimido y 90-95 % de nitrógeno puro, Tyree et al., 1978) si el potencial hídrico es medido en una muestra más de una vez (ej. en la construcción de curvas de presión-volumen) a fin de evitar la oxidación de las membranas celulares (Campbell, 1985).

Kirkham (2005) recomienda que para mediciones exactas, uno debería comparar mediciones hechas con psicrómetros a termocupla con aquellas efectuadas con la cámara de presión, antes de asumir que la cámara de presión está dando mediciones válidas de potencial hídrico.

Recientes usos de la cámara de presión han permitido demostrar que las plantas herbáceas pueden revertir los embolismos sin que el potencial hídrico total en el xilema se acerque o sea mayor que la presión atmosférica (Stiller et al., 2005).

Ventajas, limitaciones y precauciones en el uso de psicrómetros a termocupla. Los psicrómetros a termocupla se pueden utilizar para medir el potencial hídrico del suelo y de varios tejidos vegetales: hojas (Boyer, 1969; Casper et al., 2006), tallos (Meyer y Boyer, 1972), raíces (Westgate y Boyer,

1985; Ogawa y Yamauchi, 2006), nódulos de raíces en leguminosas (Huang et al., 1975), partes florales (ej. estilos y polen, Westgate y Boyer, 1986a) y semillas en desarrollo (Westgate y Boyer, 1986b). Kirkham (2005) hace una detallada descripción de los 4 tipos de instrumentos con termocuplas que están en uso para la medición del potencial hídrico en las plantas. Los psicrómetros a termocupla también se han usado para la construcción de curvas presión-volumen en plantas herbáceas (Proctor, 2003) y determinaciones de capacitancia (relación entre el cambio en el contenido de agua al cambio en el potencial hídrico de un tejido) en vegetación boscosa (Meinzer et al., 2003).

Son muy exactos para medir temperatura y requieren pequeñas cantidades de tejido vegetal para su operación (Boyer, 1987). La exactitud de la medición psicrométrica puede ser de $\pm 0,02$ MPa o aún mejor (Campbell, 1985). Están disponibles comercialmente (Turner, 1981; Brown y Bartos, 1982; Kirkham, 1985) y tienen un rango amplio de sensibilidad (0-8 MPa) (Brown y Bartos, 1982). Las mediciones se pueden efectuar en forma manual o utilizando equipos automáticos. El potencial hídrico del suelo y de tejidos vegetales, y los errores estándar asociados con éstas mediciones, se pueden predecir utilizando modelos (ej. Brown y Bartos, 1982; Savage et al., 1983a*). Los psicrómetros son calibrados con una serie de soluciones de potencial hídrico conocido (Brown y Bartos, 1982). Otras características incluyen su capacidad de detectar pequeñas diferencias en presiones de vapor, facilidad de construcción, calibración estable durante periodos prolongados y gran capacidad para medir cambios rápidos de potencial hídrico (Brown, 1970; Savage et al., 1984; Turner et al., 1984). Sin embargo, estos instrumentos que pueden determinar el potencial hídrico a partir de la humedad relativa (Spomer, 1985) son muy sensibles a errores debido a que el rango de potencial hídrico de los tejidos vegetales corresponde a un rango de humedad relativa muy pequeño (98,5-100%, Spomer, 1985).

Una de las termocuplas más comúnmente usadas en las mediciones del potencial hídrico en las plantas es la de chromel-constantan, debido a que está disponible comercialmente. Su poder termoeléctrico es de $60 \mu\text{V}/^\circ\text{C}$. Otros investigadores, sin embargo, prefieren utilizar bismuto-bismuto + 5% de estaño debido a que su poder termoeléctrico es dos veces mayor ($126 \mu\text{V}/^\circ\text{C}$) que aquel en las termocuplas constuídas de chromel-constantan (Kirkham, 2005). Otra ventaja de las termocuplas hechas con bismuto-bismuto + 5% de estaño es que el enfriamiento Peltier máximo posible es de $4,9^\circ\text{C}$ mientras que éste es de tan sólo $1,5^\circ\text{C}$ en aquellas construídas con chromel-constantan (Kirkham, 2005). Este autor provee

*El software desarrollado por Brown y Bartos (1982) para obtener el potencial hídrico bajo condiciones isotérmicas en hojas o suelo está disponible gratuitamente a los interesados (cebusso@criba.edu.ar; carlosbusso1@gmail.com)

detalles en la construcción de termocuplas, como así también de su funcionamiento y calibración.

Se ha informado que los psicrómetros a termocupla son los únicos instrumentos capaces de medir el potencial hídrico de hojas enteras *in situ*, lo que evitaría errores debidos al corte (Savage et al., 1983b). Psicrómetros a termocupla compensados por temperatura también se han utilizado para la medición *in situ* de potencial hídrico en raíces y tallos (ver referencias en Turner, 1981). El uso de estos psicrómetros, sin embargo, se ve limitado por las fluctuaciones rápidas de temperatura en condiciones de campo y la dificultad de obtener condiciones isotérmicas entre la hoja y el psicrómetro (Shackel, 1984; Spomer, 1985; Campbell, 1985). Campbell (1985) informó que el error en la medición es de aproximadamente 0,015 MPa por cada 0,001 C de diferencia entre la hoja y la cámara. La utilización de materiales de alta conductividad térmica y de una gran masa térmica es aconsejable en la construcción de estos psicrómetros para reducir las diferencias de temperatura (Campbell, 1985).

Las dificultades en la obtención de condiciones de equilibrio de presión de vapor entre la cámara del psicrómetro *in situ* y la hoja se pueden deber a que no se ha sellado bien la cámara a la hoja y/o a la alta resistencia impuesta por el tejido al intercambio de vapor de agua. Grasa usada para lograr condiciones de vacío, y mezclas de cera y lanolina se han utilizado para sellar el psicrómetro a la superficie de la hoja (Neumann y Thurtell, 1972; Campbell y Campbell, 1974; Brown y Tanner, 1981). La resistencia impuesta por la cutícula foliar al intercambio de vapor de agua se puede disminuir mediante la remoción de las ceras cuticulares o la abrasión de la superficie de la hoja (Neumann y Thurtle, 1972; Brown y Tanner, 1981; Savage et al., 1984; Turner et al., 1984). Errores inherentes al psicrómetro mismo (0,02-0,05 MPa, Campbell, 1985) y debidos al efecto de sombreado del psicrómetro sobre la superficie foliar pueden causar desviaciones en la medición psicrométrica *in situ* aún cuando la hoja y el aire de la cámara estén en equilibrio con respecto a temperatura y presión de vapor. El error ocasionado por el sombreado de la hoja por el psicrómetro, sin embargo, puede ser pequeño (Campbell y Campbell, 1974).

Las mediciones de potencial hídrico efectuadas con psicrómetros a termocupla *in situ* pueden diferir de aquellas que utilizan material foliar separado de la planta (Savage et al., 1984). Esto se debe en parte a los cambios de potencial hídrico que ocurren después que el tejido es separado de la planta (Walker et al., 1983; Savage et al., 1984). Cuando el tejido se separa de la planta, el psicrómetro va a sobreestimar el potencial hídrico si entra aire en el xilema (Hardegree, 1987). Las desviaciones entre las mediciones efectuadas con los dos métodos pueden ser mayores a valores altos

de turgencia y cuando se incrementa la permanencia del tejido en la cámara (Campbell, 1985).

Cuando se trabaja con psicrómetros que utilizan material separado de la planta, el tejido debe ser colocado en la cámara psicrométrica dentro de los 10 segundos de su separación a fin de minimizar errores por pérdida de agua (Boyer, 1987). Recientemente se ha diseñado un instrumento que reduce las pérdidas de agua por evaporación en el muestreo de discos de hoja (Wullschleger y Oosterhuis, 1986). Las células dañadas por el corte, sin embargo, pueden liberar una solución con un potencial hídrico distinto del de las células intactas, lo que puede afectar la medición psicrométrica (Boyer, 1987). Este efecto puede ser minimizado si se trabaja con tamaños grandes de muestra en relación a la superficie de corte. Por ejemplo, se ha aconsejado que la relación entre la longitud de corte y la superficie foliar debería ser menor de 0,12 mm, aunque esto dependería de la especie y de la resistencia cuticular de la superficie foliar a la pérdida de agua (Talbot et al., 1975). También se ha señalado que los discos de hoja deberían tener un diámetro de al menos 1,5 cm (Walker et al., 1984). Diferencias en el tamaño, número y manipuleo de los discos de hoja colocados en la cámara pueden afectar las mediciones de potencial hídrico (Oosterhuis y Wullschleger, 1987). Aún cuando las muestras puedan tener una alta relación superficie de corte/volumen, su rápida colocación en la cámara psicrométrica puede reducir las pérdidas evaporativas (Johnson et al., 1986). La superficie de corte se podría cubrir con vaselina en casos extremos (Boyer, 1987).

El tejido en crecimiento va a continuar creciendo dentro de la cámara aún después de separado de la planta. Este tejido va a tomar agua desde el tejido maduro si ambos fueron incluidos en la muestra (Boyer et al., 1985). Esto va a ocasionar una declinación gradual del potencial hídrico en un período de varias horas. Para evitar este inconveniente es aconsejable efectuar la medición lo antes posible (2-3 h). Si el muestreo sólo incluyó tejido en crecimiento, las paredes celulares se seguirán extendiendo. Como no hay abastecimiento de agua al tejido, la turgencia y por ende el potencial hídrico disminuirán (Campbell, 1985; Boyer, 1987). La disminución en el potencial hídrico puede ser de 0,05-0,1 MPa con respecto a la planta intacta (Boyer et al., 1985). Estos errores se minimizan cuando se trabaja con tejido maduro (Campbell, 1985).

Otra fuente de error en la utilización de tejido separado de la planta es el calentamiento producido en la cámara psicrométrica por la respiración de dicho tejido. El mantenimiento de un buen contacto térmico entre el tejido y la cámara, y la construcción de cámaras con materiales de alta conductividad térmica contribuyen a disminuir este problema (Campbell, 1985).

Si bien existen entonces varias limitaciones en el uso de tejido

separado de la planta, la teoría permite obtener un preciso control de la temperatura mediante el uso de baños de agua (Brown y Bartos, 1982; Spomer, 1985). Sin embargo, la necesidad de periodos de tiempo prolongados a fin de lograr condiciones isotérmicas en la utilización de baños de agua ha limitado el uso de los psicrómetros a termocupla en estudios de campo (Wiebe et al., 1971; Turner, 1981; Kikuta et al., 1985; Spomer, 1985). La existencia de estos períodos prolongados generalmente se debe a que las superficies de la cámara psicrométrica y/o de la muestra no están limpias, a los materiales de construcción de la cámara, a la resistencia del tejido a la transferencia de vapor de agua, a cambios metabólicos en el tejido o de temperatura de la cámara y a la forma y tamaño de la cámara (Savage et al., 1983b; Spomer, 1985). El tamaño de la cámara psicrométrica debe ser adecuado (6-10 cm para tejido en crecimiento y respirando activamente) como para no limitar el abastecimiento de oxígeno a la muestra hasta que se haya completado la medición (Boyer, 1987). De lo contrario, la lectura de la termocupla no se estabilizará debido a la pérdida de turgencia y de integridad de las membranas. El número de muestras que se pueden efectuar diariamente puede ser limitado además por la disponibilidad de cámaras psicrométricas (Turner, 1981).

Las mediciones efectuadas con psicrómetros a termocupla (ej. tipos Spanner y Richards y Ogata) necesitan un preciso control de la temperatura del orden de $\pm 0,001$ C (Brown, 1970; Wiebe et al., 1971; Brown y Van Haveren, 1972; Turner, 1981; Brown y Bartos, 1982; Savage et al., 1983a; Kirkham, 1985; Spomer, 1985; Boyer, 1987). El control de la temperatura requiere mediciones precisas de voltaje del orden de 10^{-8} volts (Kirkham, 1985; Spomer, 1985). Spomer (1985) ha mencionado ventajas y desventajas del uso de diferentes voltímetros y precauciones que se deberían tomar durante las mediciones.

Con anticipación al enfriamiento Peltier (Brown, 1970), la lectura en microvolts de un psicrómetro va a ser distinta de cero (positiva o negativa dependiendo de la dirección del movimiento de calor) si existe un gradiente de temperatura dentro del psicrómetro (las temperaturas de las uniones sensante y de referencia no son iguales) (Brown y Bartos, 1982). Este valor en microvolts ha sido llamado "zero-offset". La existencia de "zero-offsets" puede ser una fuente de error significativa en el uso de psicrómetros o higrómetros a termocupla (Dixon, 1987). Los equipos de medición de voltaje deben tener un cable a tierra y estar alejados por lo menos 2 metros de cables de otros equipos eléctricos conjuntamente con los cables de la termocupla a fin de minimizar errores en la medición de "zero-offsets" (Dixon, 1987). Errores en el uso y características técnicas del microvoltímetro, y en la calibración de los psicrómetros también constituyen una

fuelle de variación en las mediciones de potencial hídrico (Campbell y Campbell, 1974).

La adsorción de agua en la superficie de la cámara psicrométrica y/o de la muestra también causa errores en la determinación del potencial hídrico de las hojas (Shackel, 1984; Bennett y Cortes, 1985; Spomer, 1985; Boyer, 1987). Si los materiales tienen una gran capacidad de adsorción, la termocupla va a evaporar agua muy rápido y por lo tanto la muestra va a parecer demasiado seca. Estos errores se pueden minimizar limpiando las superficies de la cámara, de la termocupla y de la muestra, recubriendo la superficie interna de la cámara con vaselina antes de usarla, utilizando materiales relativamente no adsorptivos y superficies bien pulidas en la construcción de la cámara, y minimizando su superficie interna (Dixon y Grace, 1982; Spomer, 1985; Campbell, 1985; Boyer, 1987). Bennett y Cortes (1985) indicaron que los errores debido a la adsorción de agua pueden ser significativos cuando se trabaja con pequeñas cantidades de tejido, principalmente si el tejido se encuentra turgente. Además, los psicrómetros pueden adsorber más agua si se ajustan a la cámara psicrométrica con tubos de látex en comparación a tubos de plástico flexible (Bennett y Cortes, 1985).

Otras desventajas en el uso de psicrómetros a termocupla incluyen cierta dificultad en el manejo del equipo, gran sensibilidad a la construcción y geometría de la cámara y necesidad de un equipo costoso (Kirkham, 1985; Spomer, 1985).

Aún cuando se han discutido las precauciones que se deben tomar en la medición de potencial hídrico foliar *in situ*, el Dr. R.W. Brown (USDA Forest Service, Logan, Utah, USA, com. pers.), autor o coautor de muchos de los artículos citados en ésta revisión, informó en 1995 que el uso de los psicrómetros a termocupla, tanto para las mediciones de potencial hídrico en tejido vegetal como en el suelo, debe limitarse exclusivamente al laboratorio, donde las determinaciones pueden efectuarse bajo condiciones isotérmicas. Textualmente, el Dr. Brown reconoció que: *"...in recent years I have been advocating that people do not use thermocouple psychrometers of any type in-situ in the field. The requirement for temperature stability is absolute in these instruments, and models that purport to correct for thermal non-isothermality can only be relied upon in an approximate sense. Especially as one encounters the extreme range, the more unreliable they become. Therefore, I advocate and recommend that people try to collect extracted samples of either plants or soil at various depths, seal the sample in small vapor-tight vials or other containers, and transport them to a laboratory or other place where they can make readings in a waterbath or other stable thermal environment. In-situ readings in such conditions are perhaps worthless, or worse (they may even be misleading). Since 1995, I only use water potential*

data, from extracted soil (or plant) samples because I too have encountered extreme errors in estimates of water potential from in-situ data. Some researchers continued to try to use such data however, and claim to have had success by shading the surface with "pillows" (Styrofoam materials) laid on the soil surface prior to in-situ readings being taken. These pillows apparently moderate the extreme temperature ranges in the soil. The problem with this is that it also modifies the actual soil conditions and perhaps alters the true water potential, thus also affecting the values interpreted. In addition, although this procedure alters conditions to suit the psychrometers within limits of the model, it also alters natural conditions. Almost certainly condensation is occurring in the soil, thus changing the actual water potential experienced by plants. In other words, there is no known alternative with these instruments; in order for them to function as designed, they must have isothermal conditions. The only way I know to accomplish this is to extract samples and measure them under isothermal conditions". Kirkham (2005) también enfatizó acerca de la necesidad de utilizar condiciones isotérmicas cuando se utilizan psicrómetros a termocupla como instrumentos de medición. Dicho autor resumió 4 formas en que la temperatura afecta las mediciones de potencial hídrico: a través de (1) la relación entre potencial hídrico y la temperatura (ver Kirkham, 2005, p. 242), (2) la dependencia de la temperatura de la relación entre la depresión del bulbo húmedo y la presión de vapor (ver Kirkham, 2005, p. 246), (3) las diferencias en temperatura entre la unión sensible de la termocupla y la muestra (que surgen, por ejemplo, de la respiración del tejido foliar), y (4) cambios de temperatura dentro de la cavidad formada por el psicrómetro a termocupla y la muestra, que van a alterar la humedad relativa del aire en la cavidad si el vapor de agua no se puede intercambiar dentro de ese sistema que lo rodea. Los errores [0,3%/°C en el caso (1) y 2%/°C en el caso (2): Kirkham, 2005] pueden ser reducidos siguiendo cuidadosos procedimientos durante la calibración (Brown y Bartos, 1982). Los efectos del calor de respiración son corregidos tomando la lectura psicrométrica con la unión libre primero seca y luego húmeda (Barrs, 1968, p. 302-303 y 311-312).

Comparación entre las mediciones obtenidas con la cámara de presión y los psicrómetros a termocupla. En general, la similitud en las observaciones efectuadas con uno u otro método es aceptable en varias especies si las observaciones se efectúan con las precauciones recomendadas en ésta revisión (Boyer, 1967; Talbot et al., 1975; Ike et al., 1978; Turner y Long, 1980; Millar, 1982; Faiz, 1983; Savage et al., 1983b; Walker et al., 1983; Turner et al., 1984; Kikuta et al., 1985; Spomer, 1985; Bennett et al., 1986; Mc Burney y Costigan, 1987; Kirkham, 2005). Los potenciales hídricos no

deberían diferir en más de 0,15 MPa para obtener un nivel de concordancia aceptable entre las dos técnicas (Campbell, 1985).

Se han informado potenciales hídricos más bajos con la cámara de presión que con los higrómetros a termocupla a altos potenciales hídricos, y potenciales hídricos más altos con la cámara de presión que con los higrómetros a termocupla a bajos potenciales hídricos en hojas de *Helianthus annuus*, *Glycine max* y *Avena sativa* (Baughn y Tanner, 1976a). Estos resultados son opuestos a los informados por Ritchie y Hinckley (1975) y Barrett y Nell (1986); Kirkham (2005) también informó potenciales hídricos más bajos (entre 0 y -0,3 MPa) con la cámara de presión que con psicrómetros a termocupla cuando las hojas de *Solanum tuberosum* L. estuvieron más secas. Sin embargo, cuando las hojas de ésta especie estuvieron por encima de -0,3 MPa, las lecturas con la cámara de presión y los psicrómetros a termocupla variaron en \pm -0,25 MPa (Kirkham, 2005). Por su parte, Campbell y Campbell (1974) obtuvieron menores valores de potencial hídrico con la cámara de presión que con los higrómetros a termocupla entre 0 y -1,5 MPa en hojas de *Triticum aestivum*. En general, las diferencias entre las técnicas podrían ser reducidas a altos potenciales hídricos o incrementadas a bajos potenciales hídricos del tejido (Kaufmann, 1968; Ritchie y Hinckley, 1975; Turner y Long, 1980; Turner et al., 1984; Bennett et al., 1986).

La técnica empleada en el muestreo, el grado de consistencia en el muestreo y en el procedimiento de medición, y errores inherentes al método mismo pueden influenciar la comparación de los resultados obtenidos con los dos instrumentos. Por ejemplo, el potencial hídrico inicial de las muestras, la abrasión o no de la cutícula foliar, el efecto de sombreado del psicrómetro sobre la hoja, la pérdida de agua por evaporación luego de separar el tejido de la planta, la utilización de muestras provenientes de distintas partes dentro de una misma planta y la especie en estudio podrían ser una fuente de variación en las mediciones efectuadas con una u otra técnica (Boyer, 1967; Ritchie y Hinckley, 1975; Baughn y Tanner, 1976a; Turner y Long, 1980; Savage et al., 1983b; Turner et al., 1984; Dixon, 1987).

Varios autores (Boyer, 1967; Kaufmann, 1968; Ritchie y Hinckley, 1975; Millar, 1982) sostienen que los valores de potencial hídrico obtenidos con psicrómetros a termocupla deberían usarse como un patrón para evaluar los valores de potencial hídrico obtenidos con la cámara de presión. Por otra parte, Turner (1987) sostiene que una técnica no es más confiable que la otra con este propósito. Sin embargo, los psicrómetros podrían ser utilizados como un patrón para corregir valores obtenidos con la cámara de presión bajo ciertas condiciones de trabajo (Hardegree, 1987). En estos

casos, se debe tomar la precaución de realizar la descompresión de la muestra con lentitud; descompresiones rápidas pueden causar daño al tejido que puede luego afectar los valores de potencial hídrico determinados con psicrómetros (Ritchie y Hinckley, 1975).

PRESIONES OSMÓTICA Y DE TURGENCIA

La estimación de las presiones osmótica y de turgencia con la cámara de presión y los psicrómetros a termocupla tienen las mismas limitaciones y precauciones que se han mencionado para la determinación del potencial hídrico.

Presión osmótica. Los principios en que se basa el uso de ambos instrumentos para determinar la presión osmótica de tejidos vegetales y detalles de su utilización se pueden hallar en Wiebe et al. (1971), Tyree y Hammel (1972), Turner (1981) y Kirkham (1985).

La presión osmótica se puede determinar de dos formas distintas utilizando psicrómetros a termocupla. Una forma consiste en colocar el contenido celular del tejido sobre papel de filtro; este papel es luego introducido en una cámara psicrométrica que es sumergida en un baño de agua a temperatura constante (25 C) hasta que se alcancen condiciones isotérmicas y luego se efectúa la medición. Otra manera es colocar el tejido vegetal en la cámara psicrométrica, congelar el tejido dentro de la cámara utilizando nitrógeno líquido o hielo seco, y determinar la presión osmótica luego del descongelamiento de dicho tejido en el baño de agua manteniendo la cámara cerrada. La rotura de las membranas celulares también se puede obtener aplicando calor (Walter, 1963, citado en Campbell, 1985). Se deben tomar precauciones para evitar la entrada de agua en las cámaras que están sumergidas en el baño de agua.

La rotura de las membranas provoca que el simplasma sea diluido por agua del apoplasto -que es casi puro- luego del congelamiento del tejido lo que implica una subestimación de la presión osmótica (Tyree, 1976; Turner, 1981; Meinzer et al., 1986). La dilución es mayor en tejidos deshidratados (ver referencias en Turner, 1981). En vista de los errores que pueden surgir al congelar el tejido vegetal, Turner (1981) aconseja el uso de la técnica que utiliza los contenidos celulares.

El conocimiento de la fracción de agua del apoplasto [5-50% en especies de mono y dicotiledóneas: Hellkvist et al. (1974), Campbell et al. (1979), Toft et al. (1987), Busso (1988)] permite corregir las mediciones psicrométricas de la presión osmótica (Tyree, 1976). La fracción de agua

del apoplasta se puede estimar utilizando curvas de presión-volumen obtenidas usando la cámara de presión (Tyree, 1976) y características de potencial mátrico del tejido (Campbell, 1985). La teoría para el desarrollo de curvas presión-volumen fue descrita detalladamente por Kirkham (2005). Si bien habría una pequeña cantidad de solución proveniente del apoplasto en la solución obtenida al someter a presión tejidos de angiospermas y coníferas, el error obtenido en las mediciones sería pequeño (Tyree y Hammel, 1972).

El período de tiempo para el descongelamiento del tejido vegetal debe ser adecuado (Turner, 1981). El derretimiento del hielo formado luego de la inmersión de la cámara en nitrógeno líquido no se completaría aún después de 30 minutos de comenzado el descongelamiento. Períodos de descongelamiento prolongados, sin embargo, podrían favorecer la hidrólisis enzimática de almidón y de otros compuestos insolubles lo que causaría una sobreestimación de la presión osmótica (Turner, 1981; Brown y Tanner, 1983). Por el contrario, algunos autores (ej. Bennett et al., 1986) no observaron hidrólisis de almidón durante el período de descongelamiento (4 h) en hojas de *Medicago sativa*, *Glycine max* y *Zea mays*. La utilización del método por calor propuesto por Walter (1963) contribuiría a resolver este problema.

La presión osmótica también se puede determinar a distintos contenidos de agua del tejido vegetal (ej. a turgencia total y a falta de turgencia) utilizando la cámara de presión mediante la construcción de curvas de presión-volumen (Tyree y Hammel, 1972; Cheung et al., 1975; Turner, 1981, 1987). Schulte y Hinckley (1985) han desarrollado un modelo de regresión no lineal que permite una mejor estimación de los parámetros que se pueden obtener a partir de las curvas de presión-volumen con respecto al método de análisis convencional¹. Estos parámetros son (a) contenido relativo de agua en el punto de pérdida de turgencia del tejido, (b) presión osmótica a turgencia total, (c) presión osmótica en el punto de pérdida de turgencia, y (d) fracción de agua simplástica. La hidratación de las muestras para el desarrollo de las curvas de presión-volumen, sin embargo, podría alterar el valor de uno o más de estos parámetros (Meinzer et al., 1986). En el desarrollo de las curvas de presión-volumen es preferible pesar la hoja en lugar de recolectar la solución del xilema en recipientes entre lecturas sucesivas con la cámara de presión a fin de evitar pérdidas evaporativas (Turner, 1981). Precauciones adicionales para determinar la presión osmótica utilizando la cámara de presión se pueden encontrar en Turner (1981).

Los experimentos que han comparado los valores de presión osmó-

*Carlos Busso dispone gratuitamente de este programa para los interesados en su uso (cebusso@criba.edu.ar; carlosbusso1@gmail.com)

tica obtenidos por ambos métodos son pocos (Kirkham, 1985). Dentro de las pocas comparaciones efectuadas, Walker et al. (1983) obtuvieron valores de presión osmótica similares por ambas técnicas cuando las mediciones se efectuaron en el punto de plasmólisis incipiente en *Triticum aestivum*.

Presión de turgencia. La presión de turgencia puede ser obtenida de la diferencia entre el potencial hídrico total y la presión osmótica del tejido. Ambos valores pueden ser determinados utilizando la cámara de presión o los psicrómetros a termocupla y deben ser medidos en el mismo tejido a fin de minimizar errores (Turner, 1981). Este procedimiento asume que el potencial mátrico (Wiebe et al., 1971) y gravitacional (Kirkham, 1985) son muy pequeños.

Los errores cometidos en la medición del potencial hídrico y de la presión osmótica con ambas técnicas (que ya han sido descritos) afectarán los valores de presión de turgencia obtenidos por diferencia. Varios investigadores [ver referencias incluídas en Tyree (1976) y Markhart et al. (1981)] han informado valores negativos de presión de turgencia. Esto se puede deber a la pérdida de humedad desde el tejido separado de la planta cuando el potencial hídrico se mide con la cámara de presión, y a la dilución del simplasma con agua del apoplasma cuando la presión osmótica se mide en tejidos que han sido congelados y luego descongelados usando psicrómetros a termocupla (Tyree, 1976; Markhart et al., 1981; Turner, 1981).

La presión de turgencia también se puede estimar a partir de las curvas de presión-volumen (Tyree y Hammel, 1972). En este procedimiento, la presión de turgencia siempre es positiva a contenidos relativos de agua que están por encima del punto de plasmólisis incipiente. Cuando la presión de turgencia se hace cero, se obtiene una relación lineal negativa entre la inversa del potencial hídrico y el contenido relativo de agua del tejido. Turner (1981) ha sugerido el uso de curvas de presión-volumen para obtener estimaciones confiables de la presión de turgencia. Esto se debe a que esta técnica evita la introducción de errores por dilución y además el potencial hídrico y la presión osmótica se determinan en el mismo tejido. El período de tiempo prolongado necesario para construir curvas de presión-volumen, sin embargo, podría desalentar el uso de esta técnica (Turner, 1987).

CONCLUSIONES

El método a utilizar en la determinación de las relaciones hídricas de los tejidos vegetales se debe elegir de acuerdo al material vegetal y al

propósito de la investigación (Kikuta et al., 1985). Los psicrómetros a termocupla potencialmente son más precisos que la cámara de presión y pueden ser un método conveniente, exacto y confiable en las determinaciones de potencial hídrico si se adoptan buenas técnicas de muestros y se siguen precauciones adecuadas durante el mismo. Sin embargo, la técnica psicrométrica es más difícil de usar, y su uso debe estar limitado al laboratorio (Spomer, 1985; Brown, USDA Forest Service, Logan, UT, USA, com. pers.). La cámara de presión, aunque menos precisa, puede ser utilizada en condiciones de campo. El uso de la cámara de presión es favorecido por la facilidad de su operación y por el hecho que una gran cantidad de datos puede ser obtenida en poco tiempo (Kikuta et al., 1985; Kirkham, 2005).

REFERENCIAS

- Barlow, E.W.R. (1986). Water relations of expanding leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* 13: 45-58.
- Barrett, J.E. y T.A. Nell (1986). Water relations and water potential measurements for vegetative poinsettia. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 111: 773-776.
- Barrs, H.D. (1968). Determination of water deficits in plant tissues. In: Kozlowski, T.T. (ed.), p. 235-368. Water deficits and plant growth. Vol. 1. Development, control, and measurement. Academic Press, New York.
- Baughn, J.W. y C.B. Tanner (1976a). Leaf water potential: Comparison of pressure chamber and *in situ* hygrometer on five herbaceous species. *Crop Science* 16: 181-184.
- Baughn, J.W. y C.B. Tanner (1976b). Excision effects on leaf water potential of five herbaceous species. *Crop Science* 16: 184-190.
- Bennett, J.M. y P.M. Cortes (1985). Errors in measuring water potentials of small samples resulting from water adsorption by thermocouple psychrometer chambers. *Plant Physiology* 79: 184-188.
- Bennett, J.M., P.M. Cortes y G.F. Lorens (1986). Comparison of water potential components measured with a thermocouple psychrometer and a pressure chamber and the effects of starch hydrolysis. *Agronomy Journal* 78: 239-244.
- Boyer, J.S. (1967). Leaf water potentials measured with a pressure chamber. *Plant Physiology* 42: 133-137.
- Boyer, J.S. (1969). Measurement of the water status of plants. *Annual Review of Plant Physiology* 20: 351-364.
- Boyer, J.S. (1987). Thermocouple psychrometry in plant research. Proceedings of International Conference on Measurement of Soil and Plant Water Status. Utah State University, Logan, Utah. Vol. 3: 26-30.
- Boyer, J.S., A.J. Cavalieri y E.D. Schulze (1985). Control of the rate of cell enlargement: Excision, wall relaxation, and growth-induced water potentials. *Planta* 163: 527-543.
- Brown, R.W. (1970). Measurement of water potential with thermocouple psychrometers: Construction and applications. USDA Forest Service. Research paper INT-80. Intermountain Forest and Range Experimental Station, Ogden, Utah.
- Brown, R.W. y D.L. Bartos (1982). A calibration model for screen-caged peltier thermocouple psychrometers. USDA Forest Service. Research Paper INT-293. Intermountain Forest and Range Experimental Station, Ogden, Utah.
- Brown, P.W. y C.B. Tanner (1981). Alfalfa water potential measurement: A comparison of the pressure chamber and leaf dew point hygrometer. *Crop Science* 21: 240-244.
- Brown, P.W. y C.B. Tanner (1983). Alfalfa osmotic potential: A comparison of the water-release curve and frozen-tissue methods. *Agronomy Journal* 75: 91-93.

- Brown, R.W. y B.P. Van Haveren (1972). Psychrometry in water relations research. Proceedings of the Symposium on Thermocouple Psychrometers. Utah Agriculture Experimental Station, Utah State University, Logan, Utah.
- Busso, C.A. (1988). Factors affecting recovery from defoliation during drought in two aridland tussock grasses. PhD dissertation. Utah State University, Logan, Utah.
- Campbell, G.S. (1985). Instruments for measuring plant water potential and its components. En: Marshall, B. and F.I. Woodward (eds.), pp. 193-214. Instrumentation for environmental physiology. University Press, Cambridge, England.
- Campbell, G.S. y M.D. Campbell (1974). Evaluation of a thermocouple hygrometer for measuring leaf water potential *in situ*. *Agronomy Journal* 66: 24-27.
- Campbell, G.S., R.I. Papendick, E. Rabie y A.J. Shayo-Ngowi (1979). A comparison of osmotic potential, elastic modulus, and apoplastic water in leaves of dryland winter wheat. *Agronomy Journal* 71: 31-36.
- Casper, B.B., I.N. Forseth y A.A. Watt (2006). A stage-based study of drought response in *Cryptantha flava* (Boraginaceae): gas exchange, water use efficiency, and whole plant performance. *American Journal of Botany* 93: 977-987.
- Cheung, Y.N.S., M.T. Tyree y J. Dainty (1975). Water relations parameters on single leaves obtained in a pressure bomb and some ecological interpretations. *Canadian Journal of Botany* 53: 1342-1346.
- Dixon, M.A. (1987). *In situ* temperature corrected hygrometer. Proceedings of International Conference on Measurement of Soil and Plant Water Status. Utah State University, Logan, Utah. Vol. 2: 67-70.
- Dixon, M. y J. Grace (1982). Water uptake by some chamber materials. *Plant Cell Environment* 5: 323-327.
- Faiz, S.M.A. (1983). Use of pressure bomb in the determination of soil water potential. *Plant Soil* 73: 257-264.
- Ferreira, R.E., V.G. Selles, P.B. Maldonado, J.A. Celedón y P.M. Gil (2007). Efecto del clima, de las características de la hoja y de la metodología de medición en el potencial hídrico xilemático en palto (*Persea americana* Mill.). *Agricultura Técnica* (Chile) 67: 182-188.
- Fulton, A., R. Buchner y C. Gilles (2001). Rapid equilibration of leaf and stem water potential under field conditions in almonds, walnuts, and prunes. *HortTechnology* 11: 502-673.
- Gandar, P.W. y C.B. Tanner (1975). Comparison of methods for measuring leaf and tuber water potentials in potatoes. *American Potato Journal* 52: 387-397.
- Gates, D.M. (1968). Transpiration and leaf temperature. *Annual Review of Plant Physiology* 19: 211-238.
- Geitmann, A. (2006). Experimental approaches used to quantify physical parameters at cellular and subcellular levels. *American Journal of Botany* 93: 1380-1390.
- Hardegee, S.P. (1987). Errors in the estimation of pre-excision plant water potentials with the pressure chamber. Proceedings of International Conference on Measurement of Soil and Plant Water Status. Utah State University, Logan, Utah. Vol. 2: 35-38.
- Hellkvist, J., G.P. Richards y P.G. Jarvis. (1974). Vertical gradients of water potential and tissue water relations in sitka spruce trees measured with the pressure chamber. *Journal of the Applied Ecology* 11: 637-667.
- Huang, C.Y., J.S. Boyer y L.N. Vanderhaef 1975. Acetylene reduction (nitrogen fixation) and metabolic activities of soybean having various leaf and nodule water potentials. *Plant Physiology* 56: 222-227.
- Ike, I.F., G.W. Thurtell y K.R. Stevenson (1978). Evaluation of the pressure chamber technique for measurement of leaf water potential in cassava (*Manihot* species). *Canadian Journal of Botany* 56: 1638-1641.
- Johnson, R.C., H.T. Nguyen, R.W. Mc New y D.M. Ferris (1986). Sampling error for leaf water potential measurements in wheat. *Crop Science* 26:380-383.
- Kaufmann, M.R. (1968). Evaluation of the pressure chamber technique for estimating plant water potential of forest tree species. *Forest Science* 14: 369-374.
- Kikuta, S.B., E. Kyriakopoulos y H. Richter (1985). Leaf hygrometer v. pressure chamber: A comparison of pressure-volume curve data obtained on single leaves by alternating measurements. *Plant Cell Environment* 81 363-367.

- Kirkham, M.B. (1985). Techniques for water-use measurements of crop plants. *Hortscience* 20: 993-1001.
- Kirkham, M.B. (2005). Principles of soil and plant water relations. Elsevier Academic Press, New York. 500 p.
- Leach, J.E., T. Woodhead y W. Day (1982). Bias in pressure chamber measurements of leaf water potential. *Agricultural Meteorology* 27: 257-263.
- Markhart, A.H. III, N. Sionit y J.N. Siedow (1981). Cell wall water dilution: an explanation of apparent negative turgor potentials. *Canadian Journal of Botany* 59: 1722-1725.
- Mc Burney, T. y P.A. Costigan (1987). Plant water potential measured continuously in the field. *Plant Soil* 97: 145-149.
- Mc Cown, R.L. y B.H. Wall (1979). Improvement of pressure chamber measurements of two legumes by constriction of stems. *Plant Soil* 51: 447-451.
- Meinzer, F.C., S.A. James, G. Goldstein y D. Woodruff (2003). Whole-tree water transport scales with sapwood capacitance in tropical forest canopy trees. *Plant, Cell and Environment* 26: 1147-1155.
- Meinzer, F.C., P.W. Rundel, M.R. Sharifi y E.T. Nilsen, (1986). Turgor and osmotic relations of the desert shrub *Larrea tridentata*. *Plant Cell Environment* 9: 467-475.
- Meiri, A., Z. Plaut y D. Shimshi (1975). The use of the pressure chamber technique for measurement of the water potential of transpiring plant organs. *Physiologia Plantarum* 35: 72-76.
- Meyer, R.F. y J.S. Boyer (1972). Sensitivity of cell-division and cell elongation to low water potentials in soybean hypocotyls. *Planta* 108: 77-87.
- Meyer, W.S. y D.C. Reicosky (1985). Enclosing leaves for water potential measurement and its effect on interpreting soil-induced water stress. *Agricultural and Forest Meteorology* 35: 187-192.
- Meyer, W.S. y J.T. Ritchie (1980). Resistance to water flow in the sorghum plant. *Plant Physiology* 65: 33-39.
- Millar, B.D. (1982). Accuracy and usefulness of psychrometer and pressure chamber for evaluating water potentials of *Pinus radiata* needles. *Australian Journal of Plant Physiology* 9: 499-507.
- Neumann, H.H. y G.W. Thurtell (1972). A Peltier cooled thermocouple dewpoint hygrometer for *in situ* measurement of water potentials. En: Brown, R.W. y B.P. Van Haveren (eds.), pp. 103-112. Psychrometry in water relations research. Utah Agriculture Experimental Station, Logan, Utah.
- Ogawa, A. y A. Yamauchi (2006). Root osmotic adjustment under osmotic stress in maize seedlings. 1. Transient Change of growth and water relations in roots in response to osmotic stress. *Plant Production Science* 9: 27-38.
- Oosterhuis, D.M. y S.D. Wullschlegel (1987). The use of leaf discs in thermocouple psychrometers for measurement of water potential. Proceedings of International Conference on Measurement of Soil and Plant Water Status. Utah State University, Logan, Utah. Vol. 2: 77-81.
- Passioura, J.B. (1987). The use of the pressure chamber for continuously monitoring and controlling the pressure in the xylem sap of the shoot of intact transpiring plants. Proceedings of the International Conference on Measurement of Soil and Plant Water Status. Utah State University, Logan, Utah. Vol. 2: 31-34.
- Powell, D.B.B. y S.J. Coggins (1985). A portable Scholander-type pressure chamber for small-leaved cereals. *Agricultural and Forest Meteorology* 34: 277-284.
- Proctor, M.C.F. (2003). Comparative ecophysiological measurements on the light responses, water relations and desiccation tolerance of the filmy ferns *Hymenophyllum wilsonii* Hook. and *H. tumbrigense* (L.) Smith. *Annals of Botany* 91: 717-727.
- Richards, L.A. y G. Ogata (1958). Thermocouple for vapor pressure measurements in biological and soil systems at high humidity. *Science* 128: 1089-1090.
- Richter, H. y W. Rottenburg (1971). Leitfähigkeitsmessung zur Endpunktanzeige bei der Saugspannungsbestimmung nach Scholander. *Flora* 160: 440-443.
- Ritchie, G.A. y T.M. Hinckley (1971). Evidence for error in pressure-bomb estimates of stem xylem potentials. *Ecology* 52: 534-536.
- Ritchie, G.A. y T.M. Hinckley (1975) The pressure chamber as an instrument for ecological research. *Advances in Ecological Research* 9: 165-254.
- Savage, M.J., A. Cass y J.M. De Jager (1983a). Statistical assessment of some errors in thermocouple hygrometric water potential measurement. *Agricultural Meteorology* 30: 83-97.

- Savage, M.J., A. Cass y H.H. Wlebe (1984). Effect of excision on leaf water potential. *Journal of Experimental Botany* 35: 204-208.
- Savage, M.J., H.H. Wiebe y A. Cass (1983b). *In situ* field measurement of leaf water potential using thermocouple psychrometers. *Plant Physiology* 73: 609-613.
- Scholander, P.F., E.D. Bradstreet, H.T. Hammel y E.A. Hemmingsen (1966). Sap concentrations in halophytes and some other plants. *Plant Physiology* 41: 529-532.
- Scholander, P.F., H.T. Hammel, E.D. Bradstreet y E.A. Hemmingsen (1965). Sap pressure in vascular plants. *Science* 148: 339-346.
- Schulte, P.J. y T.M. Hinckley (1985). A comparison of pressure-volume curve data analysis techniques. *Journal of Experimental Botany* 36: 1590-1602.
- Shackel, K.A. (1984). Theoretical and experimental errors for *in situ* measurements of plant water potential. *Plant Physiology* 75: 766-772.
- Spanner, D.C. (1951). The Peltier effect and its use in the measurement of suction pressure. *Journal of Experimental Botany* 11: 145-168.
- Spomer, L.A. (1985). Techniques for measuring plant water. *Hortscience* 20: 1021-1028.
- Stillier, V., J.S. Sperry y R. Lafitte (2005). Embolized conduits of rice (*Oryza sativa*, Poaceae) refill despite negative xylem pressure. *American Journal of Botany* 92:1970-1974.
- Talbot, A.J.B., M.T. Tyree y J. Dainty (1975). Some notes concerning the measurement of water potentials of leaf tissue with specific reference to *Tsuga canadensis* and *Picea abies*. *Canadian Journal of Botany* 53: 784-788.
- Toft, N.L., S.J. Mc Naughton y N.J. Georgiadis (1987). Effects of water stress and simulated grazing on leaf elongation and water relations of an east african grass: *Eustachys paspaloides*. *Australian Journal of Plant Physiology* 14: 211-226.
- Turner, N.C. (1981). Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant Soil* 58: 339-366.
- Turner, N.C. (1987). The use of the pressure chamber in studies of plant water status. Proceedings of the International Conference on Measurement of Soil and Plant Water Status. Utah State University, Logan, Utah. Vol. 2: 13-24.
- Turner, N.C. y M.J. Long (1980). Errors arising from rapid water loss in the measurement of leaf water potential by the pressure chamber technique. *Australian Journal of Plant Physiology* 7: 527-537.
- Turner, N.C., R.A. Spurway y E.D. Schulze (1984). Comparison of water potentials measured by *in situ* psychrometry and pressure chamber in morphologically different species. *Plant Physiology* 74: 316-319.
- Tyree, M.T. (1976). Negative turgor pressure in plant cells: fact or fallacy? *Canadian Journal of Botany* 54: 2738-2746.
- Tyree, M.T. y H.T. Hammel (1972). The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressure-bomb technique. *Journal of Experimental Botany* 23: 267-282.
- Tyree, M.T., M.E. Mac Gregor, A. Petrov y M.I. Upeniaks (1978). A comparison of systematic errors between the Richards and Hammel methods of measuring tissue-water relations parameters. *Canadian Journal of Botany* 56: 2153-2161.
- Walker, S., D.M. Oosterhuis y M.J. Savage (1983). Field use of screen-caged thermocouple psychrometers in sample chambers. *Crop Science* 23: 627-632.
- Walker, S., D.M. Oosterhuis y H.H. Wiebe (1984). Ratio of cut surface area to leaf sample volume for water potential measurements by thermocouple psychrometers. *Plant Physiology* 75: 228-230.
- Walter, H. (1963). Zur Klärung des spezifischen Wasserzustandes in Plasma und in der Zellwand bei höheren Pflanzen und seine Bestimmung. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 76: 40-53.
- Waring, R.H. y B.D. Cleary (1967). Plant moisture stress: Evaluation by pressure bomb. *Science* 155: 1248-1254.
- Wei, C., M.T. Tyree y J.P. Bennink (2000). The transmission of gas pressure to xylem fluid pressure when plants are inside a pressure bomb. *Journal of Experimental Botany* 51: 309-316.
- Wei, C., M.T. Tyree y E. Steudle (1999). Direct measurement of xylem pressure in leaves of intact maize plants. A test of the cohesion-tension theory taking hydraulic architecture into consideration. *Plant Physiology* 121: 1191-1205.

- Wenkert, W., E.R. Lemon y T.R. Sinclair (1978). Changes in water potential during pressure bomb measurement. *Agronomy Journal* 70: 353-355.
- Westgate, M.E. y J.S. Boyer (1984). Transpiration and growth-induced water potentials in maize. *Plant Physiology* 74: 882-889.
- Westgate, M.E. y J.S. Boyer (1985). Osmotic adjustment and the inhibition of leaf, root, stem and silk growth at low water potentials in maize. *Planta* 164: 540-549.
- Westgate, M.E. y J.S. Boyer (1986a). Silk and pollen water potentials in maize. *Crop Science* 26: 947-956.
- Westgate, M.E. y J.S. Boyer (1986b). Water status of the developing grain of maize. *Agronomy Journal* 78: 714-719.
- Wiebe, H.H., G.S. Campbell, W.H. Gardner, S.L. Rawlins, J.W. Cary y R.W. Brown (1971). Measurement of plant and soil water status. Utah Agricultural Experimental Station, Logan. Bull. 484: 71.
- Wullschleger, S.D. y D.M. Oosterhuis (1986). A rapid leaf-disc sampler for psychrometric water potential measurements. *Plant Physiology* 81: 684-685.