

UN PROCEDIMIENTO DE CAMPO PARA MEDIR LA INTENSIDAD RELATIVA DE TRANSPIRACION

Po LEON NIJENSOHN 1, CARLOS J. GRASSI? y HECTOR PILASIG

SUMMARY

A method for the determination of the "relative transpiration rate" of leaf tissues is proposed. The procedure consists in measuring, simultaneously, the time taken by a cobalt chloride saturated paper to pass from the initial blue colour to a uniform pink one by the action of disks extracted from leaves and by a water saturated filter paper. This measuring is to be carried out in **pecial transpirometric cameras**.

The percentual relationship between the time-measured in seconds take by the color shift brought about by wet filter paper check, with respect to the time taken by the shift in color caused by leaf-disks, is denominated "Index of Relative Transpiration" (IRT). The final pink color can be appreciated comparing permanent patterns, whose preparation is herein indicated.

Two simple models of transpirometric cameras are proposed, both suitable to carry out the determinations in field conditions. The model "A" was used with good results in grapevine, and the "B" model can be employed for any plant and particularly for those whose foliar tissues rapidly lose water by wounds left by the cut and/or during periods of low transpiration rate.

It can be deduced from some experiments carried out on grapevine, that with the proposed procedure differences of the transpiration intensities can be brought out in leaves which belong to plants exposed to different soil water matric potentials. Experimental examples are given proving that, in the soil studied the IRT decreases sharply when the available water comes down to less than 50 % of its possible overall availability.

The method proposed is being satisfactorily used by the authors in experiments diagnosing time of irrigation.

INTRODUCCION

Diversos investigadores han comprobado que existe una relación entre la intensidad respiratoria y el potencial energético del agua en el suelo. Este potencial es función, a su vez, para cada suelo, del porcentaje de humedad del mismo (1, 2, 3). Cuando la energía con que el agua es retenida por el suelo aumenta por encima de un determinado nivel, el que parece corresponder siempre a un

¹Ing. Agr., profesor titular de Edafología y director del *Instituto de Suelos y Riego, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.*

²Ing. Agr., profesor titular de Hidrología Agrícola y jefe de sección del Instituto de Suelos y Riego.

"Enólogo, Investigador del Instituto de Suelos y Riego.

contenido de agua superior al del punto de marchitamiento permanente, la intensidad respiratoria es afectada y, probablemente, esto se refleja en la disminución de la actividad fotosintética y del rendimiento en materia seca (2, 8).

El planteo anterior, que relaciona una manifestación fisiológica de la planta con el contenido de agua en el suelo y su energía libre, puede tener un interés práctico. En efecto, podría ser la base de un método fisiológico para la determinación de la "oportunidad del riego", momento que podría estar dado, para un cierto complejo suelo-planta, por el porcentaje de agua en el suelo por debajo del cual disminuye significativamente la intensidad transpiratoria con respecto a la normal, con suficiente agua disponible, y para las mismas condiciones ambientales.

En el curso de experiencias dirigidas a establecer las relaciones entre humedad del suelo, contenido de agua de la hoja de vid e intensidad transpiratoria de la misma (1), nos encontramos ante la necesidad de contar con un método sencillo y rápido para poder evaluar, en condiciones de campo, este último fenómeno.

El procedimiento finalmente desarrollado se basa en el tiempo de cambio de coloración del papel impregnado con cloruro de cobalto, método higrocrométrico propuesto primeramente por STHAL y modificado en sucesivos trabajos por LIVINGSTONE et al., BAKKE, SHREVE (2) y MEYER (3). La técnica que proponemos difiere de la de los mencionados autores en que las determinaciones se hacen sobre discos de tejido foliar separados de las hojas y la intensidad transpiratoria se mide en cámaras diseñadas al efecto. Estas cámaras son de sencilla construcción y se prestan para la medición simultánea y comparativa de la intensidad transpiratoria de tejidos provenientes de plantas sometidas a diferentes condiciones de disponibilidad de agua en el suelo.

MATERIAL Y METODO

ELEMENTOS NECESARIOS

Cámara transpirométrica modelo "A". Está formada por una base y una tapa. La base o cuerpo de la cámara consiste en un trozo de chapa de acero inoxidable o galvanizada o estañada de 1 mm de espesor mínimo y de las dimensiones de un portaobjeto común (25 X 75 mm), sobre la que se sueldan, uno a continuación de otro, tres aros metálicos de 4 mm de altura y 17,5 mm de diámetro interno. En la parte media e inferior de la base se le suelda un fleje de acero elástico, a cuyos extremos se les da forma de voluta (fig. 1), de modo de poder sostener la cámara con los dedos pulgar e índice de una mano (fig. 2). La tapa de la cámara lo constituye un portaobjeto de vidrio al que en una de sus caras

se le ha fijado un papel de filtro, de sus mismas dimensiones, impregnado con cloruro de cobalto.

La tapa se coloca accionando hacia afuera los extremos de los flejes, los que al volver a su posición primitiva y por la presión de su elasticidad la mantienen firmemente sujeta, transformando a cada uno de los tres anillos en cámaras herméticamente cerradas (fig. 3).

Cámara transpirométrica modelo "B". La base es un portaobjetos común de vidrio o una chapa inoxidable de sus mismas dimensiones. Las camaritas están constituidas por láminas de goma de 25 X 25 X 2 mm, cada una de las cuales tiene un orificio en su parte central, de 18 mm de diámetro. La lámina del medio se pega a la base en forma permanente y es la que servirá de cámara destinada a alojar al testigo constituido por papel de filtro saturado de agua; las dos camaritas de los extremos son desmontables y quedan fijadas entre la base y la tapa, sujetándolas con una pinza adecuada (figs. 4, 5 y 6). La tapa es la misma que en la cámara modelo "A".

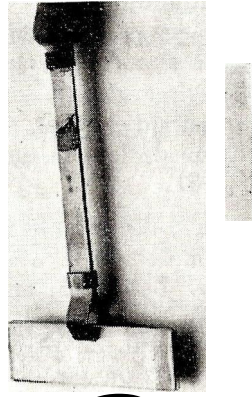
Papeles higrométricos. Se cortan tiras de papel de filtro de poro mediano, de buena calidad, de 25 mm de ancho y, sujetándolas por un extremo, se las pasa por una cubeta con solución 10 de cloruro de cobalto. Se las deja escurrir y secar colgánolas de una punta y luego se las corta en trozos de 75 mm de longitud. Estos trozos son los que se adhieren con cinta adhesiva transparente a los portaobjetos que constituyen las tapas de las cámaras transpirométricas.

Patrones de punto final. Para controlar el punto final de viraje de los papeles de cloruro de cobalto --del azul en seco al rosado en húmedo es conveniente el empleo de patrones permanentes. Estos se preparan de la siguiente manera: se coloca una tapa de cámara en un ambiente saturado de agua hasta que el papel de filtro adherido, impregnado con cloruro de cobalto, vire a un color rosado uniforme. Obtenido el tono deseado, se le coloca encima un portaobjeto común de vidrio, de modo que el papel ruede en el medio. Se apreta firmemente un portaobjeto contra el otro y se parafinan los bordes de modo de dejarlos unidos, formando una junta hermética. En esa forma el papel conserva indefinidamente su color rosado.

Elementos varios. a) Sacabocados para extraer discos de 17 y 22 mm de diámetro para usar, respectivamente, en las cámaras "A" y "B"; b) un trozo de madera de 10 X 10 cm, aproximadamente, tapizada en una de sus caras con una lámina de roma: *ch* círculos de papel de filtro Whatman 40 o similar.. de 17 mm de diámetro *el*) un frasco gotero con agua destilada; *e*) un frasco boca ancha. cierre con tapón de vidrio esmerilado y con un falso



Fig. 3



a

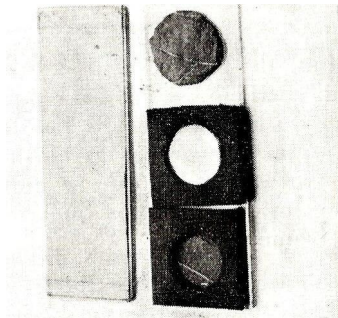


Fig. 2

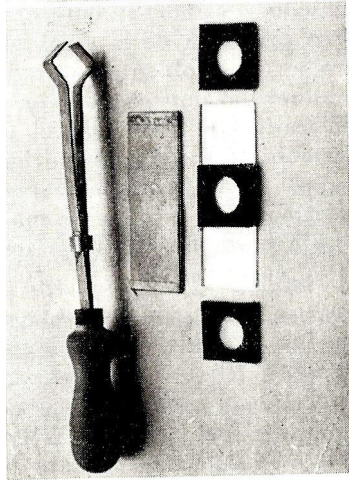


Fig. 1

CH
SI

:fondo de cloruro de calcio anhidro. En él se conservan las tapas hasta el momento de usarlas: f) frascos iguales a los anteriores o recipientes de metal, pero con algodón mojado en el falso fondo. En ellos se guardan los discos de tejido foliar desde que son extraídos hasta el momento de ser colocados en la cámara transpirométrica; g) un reloj cronómetro.

PROCEDIMIENTO

1. Una vez elegida la hoja cuya transpiración relativa se quiere medir, se la apoya sobre la madera tapizada con goma y se extrae uno o dos discos del tejido foliar mediante los sacabocados. Cuando se utiliza la cámara "A" se emplea el sacabocado de 17 mm de diámetro y cuando se usa la cámara "B" el de 22 mm.

2. Inmediatamente de extraídos se colocan uno o dos discos (según la intensidad transpiratoria) dentro de una de las camaritas o aros extremos de la cámara "A", con la superficie inferior de la hoja mirando hacia arriba (eso en las especies cuya mayor densidad estomática está en el envés de la hoja). Si se emplea la cámara "B", el disco foliar (siempre uno, en este caso) se coloca por debajo de una de las láminas de goma desmontables y se la cubre con ella, de modo que el borde quede tapado (fig. 5).

3. Segundos antes de poner los discos en la cámara se coloca en el aro central de la misma un disco de papel de filtro, el que se humedece con una gota de agua.

4. Se coloca rápidamente la tapa de la cámara, cuidando que ajuste bien: se expone a la luz de modo que ésta ilumine de manera uniforme a los tres aros y se comienza la cuenta del tiempo.

Se computan los segundos que demora cada uno de los círculos de papel de cloruro de cobalto, limitados por las camaritas, para cambiar su color azul inicial por el rosado uniforme, similar al del patrón adoptado (fig. 3).

5. La intensidad transpiratoria se expresa según un *Índice de transpiración relativa (ITR)*, el que se calcula de acuerdo a:

$$\frac{\text{Tiempo viraje disco testigo}}{\text{disco(s) problema}} \cdot 100$$

6. Puede compararse la intensidad transpiratoria de tejidos foliares de dos hojas o plantas distintas; en ese caso se colocan los discos respectivos en sendas camaritas de los extremos, poniendo siempre en la del medio el papel de filtro húmedo que sirve de testigo.

Cuando las plantas de donde se sacan las dos muestras están distanciadas considerablemente una de otra, los discos se extraen

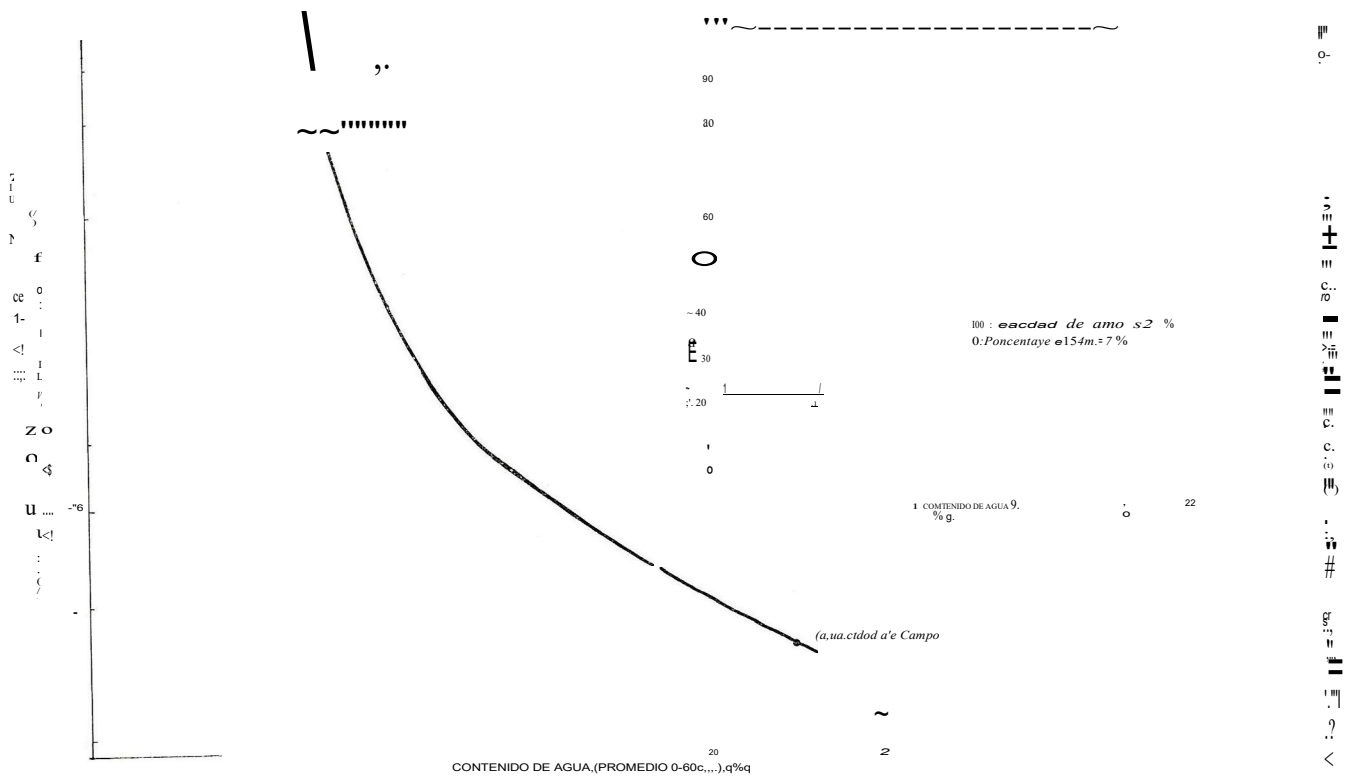


Fig. 1. -- Curva de capacidad hídrica (succión matriz vs. contenido de agua) y grMico de agua útil del suelo « Las Compuertas Franco »

simultáneamente por dos operadores y se colocan inmediatamente en los recipientes con algodón húmedo (sin que los discos toquen a éste) hasta llegar al lugar donde se hace la determinación, que estará equidistante de las dos plantas en medición.

MATERIAL

El procedimiento descrito se empleó para detectar distintas intensidades transpiratorias en hojas de vid de variedad Malbeck pertenecientes al viñedo que posee la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo en su finca "San Antonio", sita en Chacras de Coria, Luján, Mendoza. Estas hojas provenían de plantas de parcelas sometidas a diferentes regímenes de riego, las que forman parte de una serie de experiencias tendientes a estudiar la respuesta de la vid a distintos valores de energía libre de agua en el suelo.

El suelo del viñedo puede clasificarse, dentro de las series de tentativas establecidas para la región del río Mendoza (T) como "Las: compuertas franco" y es de origen aluvial, con subsuelo de cantos rodados que comienza alrededor del metro de profundidad. En cuanto a sus características con relación a la energética del agua, en la figura 1 se representan las curvas de capacidad hídrica y de porcentaje de agua útil, correspondientes a los valores promedios obtenidos para profundidades entre 0 y 60 cm. Estos datos corresponden a la aplicación de los procedimientos de desplazamiento por presión de aire en cacerola con placa de porcelana porosa y por nitrógeno en cámara con membrana de celofán (8).

En los primeros ensayos se controló el método propuesto mediante la aplicación simultánea de un procedimiento gravimétrico tendiente, también, a medir la intensidad de transpiración relativa de una hoja con respecto a otras. Para tal efecto se operó de la siguiente manera: *a)* se llevó al campo una balanza de precisión de dos platillos, protegida por caja de vidrio, y se la instaló en una mesita adecuada, cerca de las parcelas del viñedo en ensayo; *b)* se cortaban simultáneamente discos de hojas de similar posición de cada una de las dos parcelas con distinto tratamiento y se colocaban, cuatro y cuatro, en los platillos de la balanza; *e)* rápidamente se ponía en equilibrio la balanza agregando pesas al platillo que resultaba ser más liviano; *d)* al cabo de cinco minutos se volvía a poner en equilibrio la balanza, computándose la diferencia de peso como mayor intensidad transpiratoria de la muestra colocada en ese platillo con respecto a la otra muestra.

RESULTADOS

En la tabla n° 1 se consignan algunos resultados típicos obtenidos con el método propuesto, alguno de ellos con control gravimétrico.

TABLA No 1
Transpiración relativa instantánea de hojas de vid de parcelas sometidas a distintos regimenes de riego

Fecha	Tratamiento	Humedad del suelo (20-60 cm)	Método propuesto		Método gravimétrico Diferencia de peso después de 5 minutos		
			Segundos	ITR			
25/III/60	B	17,4o/o	180	67%	0 mg		
	CB	14,5 %	180	67 %			
25/III/60	A	7,2 %	120	100 o/o	80 mg		
			645	19 o/o			
	D	12,8 o/o	210	57 o/o			
			120	100 o/o (1)			
31/III/60	B	14,0 o/o	310	67 o/o			
			205	100 o/o (1)			
31/III/60	A	7,2%	1.130	12 o/o	90 1g		
			e	22,1 %		205	63 o/o
						130	100 %
14/XII/60	A	6,1 o/o	390	20,5 o/o			
			B	13,0 o/o		135	59 o/o
	e	22,0 %	95	84 %			
			80	100 %			
10/II/61	A	4,7 o/o	410	22 %			
			B	10,0 %		240	45 o/o
	e	20,0 %	142	65 %			
			92	100 (
15/III/61	A	4,8 o/o	531	14,5			
			B	16,7 %		108	71,5
	e	19,0 %	108	71,5			
			77	100 o/o			

(*) Valor correspondiente al testigo; papel de filtro saturado de agua.

DISCUSION

1. Durante el desarrollo del método propuesto se plantearon y analizaron experimentalmente posibles fuentes de error, como ser:

a) *Evaporación directa a través de la herida del corte.* Para 'Comprobar la incidencia de la evaporación directa a través de la periferia del disco y diferenciarla de la transpiración estomática y cuticular, se hizo una serie de determinaciones en las que se 'Colocó encima del disco foliar uno de metal, de tal suerte que quedaba tapada toda la superficie del círculo, dejando únicamente libre la pared correspondiente al borde del mismo. En esas condiciones se pudo observar que los tejidos de la hoja de vid perdían una cantidad insignificante de agua cuando la superficie foliar estaba interceptada por el disco metálico y que era necesario que transcurriese mucho tiempo (más de 500 segundos) para que el agua evaporada directamente a través de la herida del corte formara una aureola visible en el papel impregnado de cloruro de cobalto. En cambio, otras especies como ser: maíz, poroto, remolacha azucarera y acelga, demostraron un comportamiento distinto y el agua evaporada a través del corte influía considerablemente, disminuyendo el tiempo de viraje. Este efecto es especialmente notable cuando la intensidad transpiratoria propiamente dicha es de por sí baja. Para superar este inconveniente es que se diseñó la cámara modelo "B", donde la lámina de caucho tapa la superficie correspondiente al corte y deja expuesta únicamente, en su orificio central, epidermis intacta del disco foliar en prueba.

Por las razones antedichas consideramos preferible, para uso general, la cámara modelo "B" y reservar la cámara modelo "A" sólo, por ahora, para vid y en períodos o momentos de alta intensidad transpiratoria.

b) *Tamaño de la gota a agregar al papel de filtro testigo.* Se pudo constatar que el tiempo de viraje es independiente del tamaño de la gota agregada, lo que significa que con un gotero común, sin ninguna precaución adicional, puede asegurarse el grado de saturación conveniente para obtener la intensidad transpiratoria equivalente a $ITR = 100 \%$.

c) *Influencia de la luz.* Ante la eventual posibilidad de que la menor intensidad luminosa dentro de la cámara, con respecto a la del ambiente, provocara un cierre estomático que pudiera influir en el valor del ITR, se efectuó un ensayo en el cual se comparó el procedimiento ya descrito con otro en el que se introdujo una variante. Frente a cada camarita se abrió una ranura en el papel de cloruro de cobalto, de modo que la luz lo atravesara e iluminara directamente tanto a los discos foliares de ensayo como al papel de filtro testigo.

Los resultados obtenidos, empleando como material de ensayo hoja de acelga, se consignan en la tabla n° 2.

TABLA N° 2

Influencia de la intensidad luminosa dentro de la cámara transpirométrica en los valores de índice de transpiración relativa (sobre hoja de acelga)

	Cámara «B» común	Cámara «B» con rendijas frente a cada camarita
Material foliar Testigo	180 segundos	150 segundos
(papel de filtro mojado)	105 segundos	90 segundos
ITR	58,3 %	60,0 %

A pesar de que los tiempos absolutos de viraje disminuyeron en la cámara modificada, esa disminución afectó tanto al disco foliar como al testigo de papel de filtro mojado, por lo que los ITR obtenidos no difieren significativamente uno de otro. Puede razonablemente atribuirse la mayor velocidad absoluta de viraje a la disminución de superficie del papel de cloruro de cobalto, provocada por la abertura de las rendijas.

De lo expuesto puede deducirse que la intensidad luminosa no influye en forma especial, dentro de las modalidades del método propuesto, en la determinación de los índices de transpiración relativa.

d) Apreciación del punto final de viraje. Existe al principio una cierta dificultad en la apreciación del momento exacto de viraje, dificultad que se supera con la práctica y con el empleo de los patrones permanentes confeccionados tal como se explica en "elementos necesarios". En este sentido conceptuamos que nuestro procedimiento es más conveniente que el propuesto por MEYER (), quien emplea patrones preparados en el momento,, dejando simplemente al aire papeles de cloruro de cobalto hasta que éstos viren al rosado. Esto tiene el inconveniente de que en la gama del rosado existen muchas tonalidades, que no son reproducibles obrando de la manera indicada; además, en climas de baja humedad relativa como son los de nuestras zonas de regadío, el viraje del papel de cobalto expuesto a la atmósfera no es completo ni uniforme.

e) Influencia del color inicial del papel de cobalto. Los portaobjetos con el papel de cloruro de cobalto pueden usarse varias veces siempre que se tenga la precaución de mantenerlos sufi

ciente tiempo, entre una y otra determinación, dentro de un desecador con cloruro de calcio anhidro, de modo que presenten un color azul uniforme. Es despreciable, a los efectos de la medida del ITR, el error que puede cometerse por la iniciación del proceso de hidratación del papel desde que se extrae el portaobjetos del frasco con el deshidratante hasta que se lo coloca como tapa de la cámara transpirométrica, ya que afecta tanto a la superficie a ser humedecida por el disco foliar como a la que está encima del testigo. No obstante, en días de alta humedad relativa, ello puede resultar un cierto inconveniente, y, en esos casos, debe apresurarse en lo posible la operación del pasaje del portaobjetos del frasco a la cámara.

2. De los resultados que se detallan en la tabla n° I, confirmados por otros numerosos ensayos que se transcribirán en otro trabajo (), se deduce que existe coincidencia entre la intensidad de transpiración relativa, medida por el método propuesto y expresada como ITR %, y las diferencias de transpiración apreciadas gravimétricamente. Es decir, que cuando dos muestras tienen el mismo **ITR** no acusan diferencias de pérdida de peso en la balanza.

De acuerdo a esos mismos datos, parecería desprenderse, asimismo, que la intensidad transpiratoria no es afectada sensiblemente por un descenso de la humedad del suelo hasta el 50 % del agua disponible, mientras que sí lo es por potenciales hídricos algo superiores al porcentaje de marchitamiento permanente (**PMP**).

Lo que queda por determinar, y esto es motivo de experiencias en marcha, es si entre el potencial hídrico equivalente al PMP y el correspondiente al 50 % del agua disponible existe un valor energético definido que corresponda a una inflexión brusca en la curva de intensidad transpiratoria, es decir, que se manifieste por un descenso marcado en el valor de ITR. Este valor correspondería, hipotéticamente, al porcentaje de humedad en el que sería conveniente regar para no afectar desfavorablemente la producción. En el ensayo del 14 de diciembre de 1960, por ejemplo, se nota una diferencia apreciable entre el ITR de la parcela C, que está en humedad de campo, y que es del 84 %, con respecto a la parcela B, que tiene una humedad que corresponde aproximadamente al 40 % de agua útil y cuyo ITR es de 59 %. Este interesante problema se desarrolla en otro trabajo, pero aquí lo citamos para señalar la importancia de la posibilidad de medir la ITR por el método propuesto.

3. El expresar la intensidad de transpiración en valores relativos a la de evaporación del agua que satura el papel de filtro testigo permite obviar la influencia de factores que, como la temperatura y la humedad relativa, influyen tanto sobre las muestras de material foliar como sobre el testigo. También permite comparar eficientemente dos muestras de tejidos foliares diferentes con

respecto a un testigo común. Por ejemplo: entre los ensayos transcritos en la tabla **N** 1 el correspondiente al 25 de marzo de 1961 revela igual **ITR** para las parcelas **B** y : 67%. El 31 del mismo mes esas mismas parcelas vuelven a manifestar igual intensidad transpiratoria e idéntico valor $ITR = 67\%$. Los valores absolutos de tiempo de viraje difirieron notablemente en las dos fechas (180 310 segundos, respectivamente), pero el testigo también varió proporcionalmente.

Esto confirma la utilidad de la medida relativa de la transpiración y de la presencia del testigo.

RESUMEN

Se propone un método de determinación de la intensidad relativa de transpiración de tejidos foliares, consistente en la medición simultánea del tiempo que demora un papel impregnado en cloruro de cobalto para pasar del azul inicial al rosado uniforme, por acción de discos extraídos de las hojas y de papel de filtro saturado de agua. Esta medición se efectúa en cámaras transpiro-

métricas especiales.

Se denomina "Índice de transpiración relativa". **ITR**, a la relación porcentual entre el tiempo, medido en segundos, que demora el viraje por la acción del papel de filtro húmedo testigo con respecto al tiempo de viraje provocado por los discos foliares. La coloración rosada final se aprecia de acuerdo a patrones permanentes, cuya confección se indica.

Se proponen dos modelos sencillos de cámaras transpirométricas para efectuar las determinaciones en condiciones de campo. El modelo denominado "A" se lo empleó exitosamente en vid y el "B" puede usarse para cualquier especie y, especialmente, para aquellas cuyos tejidos foliares pierden rápidamente agua por la herida del corte y/ o en los momentos de baja intensidad trans-

piratoria.

De algunos ensayos realizados en vid se deduce que es posible, con el procedimiento propuesto, evidenciar diferencias en la intensidad transpiratoria de hojas correspondientes a plantas sometidas a diferentes valores energéticos de humedad edáfica y se citan ejemplos experimentales en los cuales se demuestra que, para el suelo estudiado, el **ITR** disminuye bruscamente cuando el agua disponible desciende a menos del 50 % del valor total posible.

El método propuesto está siendo utilizado satisfactoriamente por los autores en ensayos de diagnóstico de necesidad de riego.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- BIERHUIZEN, J. F. 1959. *Some observation between transpiration and soil moisture*. Inst. Land Water Manag. Resear. Tech. Bull. N° 4: 94-98'. Wageningen.
- 2 KUIPER, P. J. C. and BIRRHUIZEN, T.F. 1958. *The effect of some environmental factors on the transpiration of plants under controlled conditions*. Mendel. Landbouwhogesholl, Wageningen, Neerland 58 (11): 1-16.
3. FREI, E. 1954. *Transpiration and growth of sunflower plants as a function of the soil moisture tension*. Trans. Vth Inter. Cong. Soil Sci. Leopodville. 2: 74-81.
4. GRASSI, CARLOS J. y NLIENSOHN, LEÓN, 1962. *Contenido de agua e intensidad transpiratoria de hojas de vid con relación a la disponibilidad de agua en el suelo*. Inst. Suelos y Riego, Univ. Nac. de Cuyo (inédito). 5. MILLER, EWIN C. 1938. *Plant Physiology*. Second Edit.: 491-93. Mc Graw Hill Co. Inc. (N. York-London).
- 6 MEYER, B. S. 1927. *The measurement of the rate of water-vapor loss from leaves under standard conditions*. Am. J. Bot., 14 (10): 582-591.
7. ROMANELLA, CARLOS, 1957. *Los suelos de la región del río Mendoza*. Ensayo de establecimientos de series. Bol. Est. Geog. Univ. Nac. de Cuyo. Mendoza, 14 (4): 1-57.
- 8 RICHARDS, L. A., edit. 1954. *Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soil*. Agr. Hand. N° 60, U.S.D.A., 109-110, Washington, D. C.