

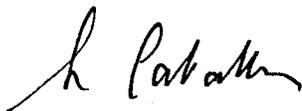
UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE BIOLOGIA

EVOLUCION DE DIVERSOS PARAMETROS FISIOLÓGICOS,
MORFOLOGICOS Y ANATOMICOS EN Triticum aestivum
L. C.V. KOLIBRI Y SU RELACION CON FACTORES ON
TOGENICOS Y AMBIENTALES.

Vº. Bº.

EL DIRECTOR



Tesis presentada por
D. José Luis Araus Or-
tega, para optar al
grado de Doctor, diri-
gida por el Catedrático
co, Prof. Dr., D. ARTU-
RO CABALLERO LOPEZ.

Barcelona,

Curso 1982-1983



Mi agradecimiento al Dr. D. Arturo Caballero por su dirección en este trabajo, así como por su ejemplo diario. También quiero expresar mi agradecimiento, por su ayuda, consejo y amistad, a todo el Departamento de Fisiología Vegetal. Gracias igualmente al Laboratorio de Microscopía Electrónica.

A
MARIA DOLORS
Y
LUIS

INDICE

1. INTRODUCCION

1.1. CONDUCTANCIA DIFUSIVA DEL CO₂ EN LA HOJA

1.1.1. CONDUCTANCIA ESTOMATICA

1.1.1.1. LIMITACION ESTOMATICA DE LA FOTOSINTESIS

1.1.2. CONDUCTANCIA/RESISTENCIA DEL MESOFILO

1.1.2.1. COMPONENTES DE LA CONDUCTANCIA/RESISTENCIA DEL MESOFILO

1.1.2.1.1. IMPORTANCIA RELATIVA DE LOS COMPONENTES DE LA CONDUCTANCIA/RESISTENCIA DEL MESO- FILO

1.1.2.1.2. CONDUCTANCIA/RESISTENCIA DEL MESOFILO EN PLANTAS C₄

1.1.2.1.3. CONDUCTANCIA/RESISTENCIA AL TRANSPORTE EN LA FASE LIQUIDA

1.1.2.1.3.1. PAPEL DE LA ANHIDRASA CARBONICA

1.1.2.1.4. RELACION ENTRE LA CONDUCTANCIA DE CARBOXI- LACION Y LA RuBP CARBOXILASA-OXIGENASA

1.1.2.1.5. RELACION ENTRE LA CONDUCTANCIA DE EXCITA- CION Y LA EFICIENCIA FOTOQUIMICA.

- 1.2. FACTORES ANATOMICOS Y MORFOLOGICOS QUE CONDICIONAN LA CONDUCTANCIA/RESISTENCIA ESTOMATICA
 - 1.2.1. CAMBIOS ONTOGENICOS EN LAS CARACTERISTICAS ESTOMATICAS
 - 1.2.1.1. DENSIDAD ESTOMATICA
 - 1.2.1.2. DIMENSIONES ESTOMATICAS
 - 1.2.2. LAS CARACTERISTICAS ESTOMATICAS EN RELACION AL NIVEL DE INSERCIÓN FOLIAR
 - 1.2.2.1. DENSIDAD ESTOMATICA
 - 1.2.2.2. DIMENSIONES ESTOMATICAS
 - 1.2.3. DISTRIBUCION DE LOS ESTOMAS EN LA LAMINA
 - 1.2.4. EFECTO DE LOS FACTORES AMBIENTALES SOBRE LAS CARACTERISTICAS ESTOMATICAS
 - 1.2.4.1. INTENSIDAD DE LUZ
 - 1.2.4.2. TEMPERATURA
 - 1.2.4.3. HUMEDAD DEL SUELO, HUMEDAD DEL AIRE Y ESTRES HIDRICO
 - 1.2.4.4. EFECTO DE LOS FACTORES AMBIENTALES SOBRE EL INDICE ESTOMATICO
 - 1.2.5. CAMBIOS ONTOGENICOS EN LA CONDUCTANCIA ESTOMATICA MAXIMA
 - 1.2.6. LA CONDUCTANCIA ESTOMATICA EN RELACION AL NIVEL DE INSERCIÓN FOLIAR
 - 1.2.7. HETEROGENEIDAD DE LA LAMINA EN RELACION A LA CONDUCTANCIA/RESISTENCIA ESTOMATICA
 - 1.2.8. CAMBIOS ONTOGENICOS EN LA RESPUESTA DE LA CONDUCTANCIA/RESISTENCIA ESTOMATICA A LOS FACTORES INTERNOS Y AMBIENTALES
 - 1.2.8.1. CURSO DIARIO DE LA CONDUCTANCIA ESTOMATICA
 - 1.2.8.2. INTENSIDAD DE LUZ
 - 1.2.8.3. ESTRES HIDRICO
 - 1.2.8.4. TEMPERATURA
 - 1.2.8.5. APORTE DE NITROGENO Y CONCENTRACION DE CO₂
- 1.3. RELACIONES ENTRE LA ANATOMIA FOLIAR Y LA CAPACIDAD FOTOSINTETICA

- 1.3.1. INFLUENCIA DE LOS FACTORES AMBIENTALES, DURANTE EL CRECIMIENTO, SOBRE LA ANATOMIA FOLIAR Y LAS CARACTERISTICAS FOTOSINTETICAS RELACIONADAS
 - 1.3.1.1. INTENSIDAD DE LUZ
 - 1.3.1.2. TEMPERATURA
 - 1.3.1.3. ESTRES HIDRICO
 - 1.3.1.4. SALINIDAD DEL MEDIO
- 1.3.2. VARIACIONES DE LA ANATOMIA FOLIAR EN FUNCION DE SU NIVEL DE INSERCIÓN
- 1.3.3. EVOLUCION DE LA CONDUCTANCIA/RESISTENCIA DEL MESOFILO (INTRACELULAR) Y SUS COMPONENTES, DURANTE LA ONTOGENIA DE LA HOJA
 - 1.3.3.1. CAMBIOS ONTOGENICOS EN LA CONDUCTANCIA TOTAL DEL MESOFILO (INTRACELULAR)
 - 1.3.3.2. EVOLUCION ONTOGENICA DE LOS COMPONENTES DE LA CONDUCTANCIA/RESISTENCIA DEL MESOFILO (INTRACELULAR)
 - 1.3.3.3. CAMBIOS ONTOGENICOS EN LA ANATOMIA Y ULTRAESTRUCTURA FOLIAR EN RELACION A LA CONDUCTANCIA/RESISTENCIA DEL MESOFILO (INTRACELULAR)

2. MATERIAL Y METODOS

- 2.1. MEDIDAS DE INTERCAMBIO GASEOSO
 - 2.1.1. CALCULO DEL INTERCAMBIO DE CO₂
 - 2.1.2. CARACTERISTICAS TECNICAS DE LA CAMARA DE INTERCAMBIO GASEOSO
 - 2.1.3. PUNTOS DE COMPENSACION DE CO₂
 - 2.1.4. TRANSPIRACION, CONDUCTANCIA/RESISTENCIA ESTOMATICA Y DEL MESOFILO
- 2.2. ESTUDIO MORFOLOGICO Y ANATOMICO
- 2.3. OTRAS MEDICIONES
- 2.4. MATERIAL VEGETAL Y CONDICIONES DE CULTIVO

3. RESULTADOS

- 3.1. EVOLUCION DE DIVERSOS PARAMETROS FISIOLÓGICOS, MORFOLÓGICOS Y ANATÓMICOS, EN SUCESIVAS HOJAS, PERTENECIENTES A UNA SIEMBRA DE PRIMAVERA DE TRITICUM AESTIVUM L. C.V. KOLIBRI

- 3.1.1. EVOLUCION DE DIFERENTES PARAMETROS MORFOLICOS Y ANATOMICOS EN SUCEASIVAS HOJAS, PERTENECIENTES A UNA SIEMBRA DE PRIMAVERA DE TRITICUM AESTIVUM L. C.V. KOLIBRI
 - 3.1.1.1. PARAMETROS ANATOMICOS QUE CONDICIONAN EL VOLUMEN DEL MESOFILO, ASI COMO EL COCIENTE AREA DEL MESOFILO/AREA FOLIAR
 - 3.1.2. EVOLUCION DE LAS TASAS DE FOTOSINTESIS NETA, A SATURACION DE LUZ Y OTROS PARAMETROS RELACIONADOS, EN SUCEASIVAS HOJAS, PERTENECIENTES A UNA SIEMBRA DE PRIMAVERA DE TRITICUM AESTIVUM L. C.V. KOLIBRI
 - 3.1.2.1. EVOLUCION DEL CONTENIDO EN NITROGENO ($\%$, mgN/cm^2), EN SUCEASIVAS HOJAS PERTENECIENTES A UNA SIEMBRA DE PRIMAVERA DE TRITICUM AESTIVUM L. C.V. KOLIBRI, Y SU RELACION CON LA RESISTENCIA DEL MESOFILO
 - 3.1.3. EFECTO DE LA EVOLUCION DE LOS PARAMETROS ANATOMICOS SOBRE DIVERSOS FACTORES FISIOLÓGICOS QUE CONDICIONAN LA CAPACIDAD FOTOSINTÉTICA
- 3.2. VARIACIONES MORFOLOGICAS, ANATOMICAS Y FISIOLÓGICAS EN HOJAS PENULTIMA Y DE BANDERA DE TRITICUM AESTIVUM L. C. V. KOLIBRI, PERTENECIENTES A TRES DIFERENTES EPOCAS DE SIEMBRA
 - 3.2.1. VARIACIONES MORFOLOGICAS EN LAMINAS, DE HOJAS PENULTIMA Y DE BANDERA, PERTENECIENTES A TRES DIFERENTES EPOCAS DE SIEMBRA
 - 3.2.2. VARIACIONES ANATOMICAS EN LAMINAS, DE HOJAS PENULTIMA Y DE BANDERA, PERTENECIENTES A TRES DIFERENTES EPOCAS DE SIEMBRA
 - 3.2.2.1. PARAMETROS ANATOMICOS QUE CONDICIONAN EL VOLUMEN DEL MESOFILO, ASI COMO EL COCIENTE AREA DEL MESOFILO/AREA FOLIAR
 - 3.2.3. DIFERENCIAS EN LA CAPACIDAD FOTOSINTÉTICA, Y OTROS PARAMETROS FISIOLÓGICOS RELACIONADOS, DE HOJAS PENULTIMA Y DE BANDERA, PERTENECIENTES A TRES EPOCAS DE SIEMBRA, ASI COMO SU RELACION CON CARACTERISTICAS ANATOMICAS

- 3.2.3.1. VARIACIONES DE LA CAPACIDAD FOTOSINTETICA EN HOJAS DE BANDERA PERTENECIENTES A SUCEсивAS EPOCAS DE SIEMBRA: EFECTO DE DIVERSOS PARAMETROS ANATOMICOS
- 3.2.3.1.1. INCIDENCIA DE DIVERSOS PARAMETROS ANATOMICOS, Y OTROS RELACIONADOS, SOBRE LA RESISTENCIA DEL MESOFILO
- 3.3. EVOLUCION DE LAS TASAS DE FOTOSINTESIS NETA A SATURACION DE LUZ, Y OTROS PARAMETROS RELACIONADOS, EN HOJAS DE BANDERA PERTENECIENTES A UNA SIEMBRA DE PRIMAVERA DE TRITICUM AESTIVUM L. C.V. KOLIBRI
- 3.3.1. EVOLUCION DE LAS TASAS DE FOTOSINTESIS NETA A SATURACION DE LUZ EN HOJAS DE BANDERA: ACCION DE LOS FACTORES LIMITANTES PRIMARIOS
- 3.3.1.1. EFECTO DE LOS FACTORES FISICOS (CONDUCTANCIA/RESISTENCIA ESTOMATICA PARA EL CO₂, TRANSPIRACION) QUE CONDICIONAN LA DIFUSION GASEOSA
- 3.3.1.2. EFECTO DE LOS FACTORES BIOQUIMICOS (INTEGRANTES DE LA CONDUCTANCIA/RESISTENCIA DEL MESOFILO A LA DIFUSION DEL CO₂)
- 3.3.1.2.1. EVOLUCION DE LOS NIVELES DE NITROGENO DE LA LAMINA Y SU RELACION CON LA ACTIVIDAD FOTOSINTETICA
- 3.3.2. POSIBLES INTERACCIONES EN LA EVOLUCION DE LAS TASAS FOTOSINTETICAS, EL PESO ESPECIFICO (DE LAMINA, VAINA, TALLO Y ESTIPE) Y EL LLENADO DEL GRANO: SU RELACION CON LA SENESCENCIA DE LA LAMINA
- 3.3.3. INFLUENCIA DE DIVERSOS PARAMETROS MORFOLOGICOS SOBRE LA DENSIDAD ESTOMATICA DE LAMINAS DE HOJA DE BANDERA
- 3.4. OBSERVACIONES SOBRE LA MORFOLOGIA, ANATOMIA Y ULTRAESTRUCTURA DE LAMINAS PERTENECIENTES A HOJAS (DEL PERIODO VEGETATIVO Y DE BANDERA) DE TRITICUM AESTIVUM L. C. V. KOLIBRI

- 3.4.1. ASPECTOS MORFOLOGICOS Y ANATOMICOS DE LA LAMINA
 - 3.4.1.1. EPIDERMIS
 - 3.4.1.2. MESOFILO
- 3.4.2. CARACTERIZACION DE LOS CLOROPLASTOS DEL MESOFILO DE LA LAMINA
 - 3.4.2.1. MORFOLOGIA Y DISPOSICION DE LOS CLOROPLASTOS EN HOJAS VEGETATIVAS Y DE BANDERA. LAMINAS 21-23
 - 3.4.2.2. ESTRUCTURA CLOROPLASTICA EN HOJAS VEGETATIVAS Y DE BANDERA. LAMINAS 24-29
 - 3.4.2.3. DISPOSICION DE LOS GRANAS EN EL CLOROPLASTO. LAMINA 30
 - 3.4.2.4. SEPARACION DE LOS COMPONENTES ESTRUCTURALES DEL CLOROPLASTO EN UN MEDIO HIPOTONICO. LAMINAS 31-33
 - 3.4.2.5. DENSIDAD CLOROPLASTICA. LAMINA 34

4. DISCUSION

- 4.1. DISCUSION DE LOS APARTADOS 3.1. Y 3.2.
 - 4.1.1. CARACTERISTICAS ANATOMICAS RELACIONADAS CON LA FOTOSINTESIS EN FUNCION DEL NIVEL DE INSERCIÓN FOLIAR
 - 4.1.2. INFLUENCIA DE LOS FACTORES AMBIENTALES SOBRE HOJAS DE UN MISMO Y/O DIFERENTE NIVEL DE INSERCIÓN FOLIAR
 - 4.1.3. RELACIONES ENTRE LAS CARACTERISTICAS ANATOMICAS Y LA CAPACIDAD FOTOSINTETICA
 - 4.1.3.1. RELACIONES ENTRE LOS NIVELES DE NITROGENO FOLIARES Y LA CAPACIDAD FOTOSINTETICA
- 4.2. DISCUSION DE LOS RESULTADOS DEL APARTADO 3.3.
 - 4.2.1. EVOLUCION ONTOGENICA EN LA HOJA DE BANDERA DE LAS TASAS DE FOTOSINTESIS NETA, CONDUCTANCIA/RESISTENCIA ESTOMATICA Y TRANSPIRACION
 - 4.2.2. EFECTO DE LA EVOLUCION ONTOGENICA DE LA CONDUCTANCIA/RESISTENCIA DEL MESOFILO Y OTROS PARAMETROS RELACIONADOS SOBRE LAS TASAS DE FOTOSINTESIS NETA

4.2.3. INTERACCIONES EN LA EVOLUCION DE LAS TASAS DE FOTOSINTESIS NETA, EL PESO ESPECIFICO Y EL LLENADO DEL GRANO: SU RELACION CON LA SENESCENCIA DE LA LAMINA

5. CONCLUSIONES

5.1. CONCLUSIONES DEL APARTADO 3.1.

5.2. CONCLUSIONES DEL APARTADO 3.2.

5.3. CONCLUSIONES DEL APARTADO 3.3.

ANEXO DE TABLAS

6. BIBLIOGRAFIA

1.- INTRODUCCION



1.- INTRODUCCION

Los factores de la hoja que pueden potencialmente determinar la fotosíntesis a saturación de luz, en condiciones de concentración de CO_2 y O_2 atmosféricas, se pueden dividir en tres categorías (Björkman 1981):

- a) La capacidad de los pasos enzimáticos del metabolismo fotosintético del carbono.
- b) La capacidad para el transporte electrónico y la fotofosforilación.
- c) La conductancia a la difusión del CO_2 , desde el aire ambiente hasta los cloroplastos.

Las dos primeras categorías de factores pueden influir sobre la fotosíntesis neta, a saturación de luz, tanto a presiones de CO_2 normales (atmosféricas), como de saturación. La tercera categoría sólo puede afectar a la fotosíntesis neta, a saturación de luz, bajo condiciones de presión de CO_2 limitantes. Cambios en cualquiera de estas tres categorías de factores, parecen estar asociados a variaciones en las características anatómicas de la hoja (Björkman 1981).

Antes de tratar sobre los factores de la tercera categoría, hay que considerar el efecto de la presión parcial de CO_2 ($p(\text{CO}_2)$), en los lugares de carboxilación, sobre las tasas de fotosíntesis. Nos basaremos en el modelo de Farquhar y col. (1980) y Farquhar y von Caemmerer (1982). Cuando la $p(\text{CO}_2)$ es baja, la enzima RuBP carboxilasa-oxigenasa está saturada respecto al substrato RuBP. Un aumento de la $p(\text{CO}_2)$ comporta, inicialmente, una activación de la enzima. Por tanto, se produce una respuesta casi lineal de la tasa de fotosíntesis, frente a la $p(\text{CO}_2)$ en el lugar de carboxilación. La pendiente de esta recta será proporcional a la cantidad, (máxima actividad), de la RuBP carboxilasa-oxigenasa. En esta región, la tasa de fotosíntesis viene determinada de forma aproximada por la ecuación:

$$A = K \cdot (C_c - \Gamma) \quad (I)$$

Dónde:

Γ es el punto de compensación

A.....es la tasa de fotosíntesis (tasa de asimilación)

K.....es la "eficiencia de la carboxilación" (Ku y Edwards 1977)

C_ces la $p(\text{CO}_2)$ en los cloroplastos. A efectos de cálculo, sus autores lo consideran igual a la $p(\text{CO}_2)$ en los espacios intercelulares.

A superiores $p(\text{CO}_2)$, si la tasa de carboxilación de la RuBP aumenta lo suficiente, la capacidad de regeneración de la RuBP se convierte en un factor limitante. Esta capacidad viene determinada por la potencialidad del transporte electrónico, que depende, en cambio, de la irradiancia absorbida. Entonces, las tasas de transporte electrónico, y de regeneración de

ATP, llegarán a ser independientes de la $p(\text{CO}_2)$. Así mismo, en esta región, las tasas de regeneración del NADPH y de la RuBP también serán virtualmente independientes de la $p(\text{CO}_2)$. Sin embargo, al aumentar la $p(\text{CO}_2)$ todavía se incrementa algo la tasa de fotosíntesis, puesto que aumenta la proporción de RuBP desviada de la oxigenación a la carboxilación.

Según este modelo, el límite de la región de respuesta lineal se sitúa hacia $p(\text{CO}_2)$ de 225-230 μbar .

1.1.- CONDUCTANCIA DIFUSIVA DEL CO_2 EN LA HOJA.

Básicamente, la transferencia difusiva del CO_2 , desde la atmósfera hasta los lugares de carboxilación, se puede dividir en dos partes:

- a) Una fase gaseosa. Es la transferencia de CO_2 molecular desde el exterior de la hoja hasta los espacios intercelulares.
- b) Una fase líquida. Consiste en la transferencia de bicarbonato y CO_2 molecular (disuelto) desde los espacios aéreos intercelulares hasta los lugares de carboxilación (incluyendo éstos) (Longtreth y col. 1980, Catský y Tichá 1982, Farquhar y Sharkey 1982).

La vía gaseosa está controlada principalmente por la conductancia estomática (Ref. Farquhar y Sharkey 1982, Tichá 1982, Solárová y Pospíšilová 1983). La líquida, por la conductancia del mesófilo (residual o intracelular). Esta última conductancia considera tanto las propiedades físicas, como las morfológicas de: las paredes celulares, plasmalema, citoplasma, membranas

cloroplásticas, estroma, así como la reacción de carboxilación de la fotosíntesis (Jarvis 1971, Longstreth y col. 1980, Catský y Tichá 1982).

La tasa de fotosíntesis neta (o absorción neta de CO_2), puede representarse por la caída en la concentración de CO_2 (o $p(\text{CO}_2)$) entre dos puntos de la vía de difusión, multiplicado por la conductancia apropiada (Jarvis 1971).

1.1.1.-CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA

Los estomas son en la práctica válvulas variables que controlan la difusión de vapor de agua, desde los espacios intercelulares hasta la atmósfera que rodea a la hoja. Por esta causa, inevitablemente, el estoma también gobierna la difusión del CO_2 (Björkman 1981, Farquhar y Sharkey 1982). Como una medida de la apertura estomática se emplea la conductancia estomática a la difusión (Ref. Farquhar y Sharkey 1982, Tichá 1982, Solárová y Pospíšilová 1983).

La dependencia de la fotosíntesis frente a la conductancia estomática a la difusión del CO_2 , se expresa de forma simple (cm/s, mm/s) mediante la ecuación diseñada por Jarvis (1971). Cowan (1977) ha introducido variaciones en la notación de la conductancia. La mide en flujos molares ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Cuando se considera el efecto del CO_2 y el O_2 sobre el funcionamiento de la RuBP carboxilasa-oxigenasa, es más apropiado emplear $p(\text{CO}_2)$ (Farquhar y Sharkey 1982):

$$A = g_c (c_a - c_i) = g_c (C_a - C_i) / P \quad (\text{II})$$

Y por lo tanto:

$$c_i = c_a - A/g_c \quad (\text{III})$$

Dónde:

P.....es la presión total

C_a y C_i ..son las presiones parciales de CO_2 en el aire y dentro de la hoja, respectivamente.

c_a y c_i ..son las fracciones molares o de volumen correspondientes.

A (J_{CO_2})..fotosíntesis neta (tasa de absorción o asimilación neta de CO_2)

g_cconductancia a la difusión del CO_2

Una forma simple, pero válida, de expresar la anterior ecuación, es mediante la ecuación de Gaastra (1959) (Ref. Jarvis 1971):

$$A = \frac{c_a - c_i}{r_a + r_s} \quad (\text{IV})$$

Dónde:

r_aes la resistencia de la capa adherida de aire a la difusión del CO_2 .

r_ses la resistencia estomática a la difusión del CO_2 :

En la ecuación (II), a efectos de cálculo, la g_c se la suele denominar conductancia estomática. Se incluye en la misma la conductancia de la capa adherida de aire (Nobel 1980, Björkman 1981).

La ecuación (II) está basada en otra similar que expresa la dependencia de la tasa de transpiración (E) frente a la conductancia a la difusión del vapor de agua (Nobel 1980, Farquhar y Sharkey). Por tanto, la conductancia a la difusión del CO_2 (g_c), se calcula mediante la conductancia a la difusión del vapor de agua, dividida por el cociente de las difusividades binarias vapor de agua/aire y CO_2 /aire (Farquhar y Sharkey 1982). En un princi-

pio, se tomó como valor de este factor 1.7, pero actualmente se acepta 1.6 (Jarvis 1971, Farquhar y Sharkey 1982). Frecuentemente se toma como valor 1.56 (Patterson 1978, Nobel 1980, Björkman 1981, Longstreth y Nobel 1979, Longstreth y col. 1980), por la sola razón de que éste es el inverso del cociente de las raíces cuadradas de los pesos moleculares ($\sqrt{44}/\sqrt{18}$) (Farquhar y Sharkey 1982). El hecho de que 1.56 sea aproximadamente correcto es puramente casual (Farquhar y Sharkey 1982)

Cuando los procesos de transferencia evolucionan, desde una fase de tipo molecular (el caso anterior) a una mezcla turbulenta, el cociente entre las conductancias al CO_2 y al vapor de agua, se acerca a uno (Raschke 1979).

Para la capa adherida de aire, el cociente entre las conductancias al vapor de agua y al CO_2 se considera 1.37, puesto que los coeficientes de transferencia en una capa limitante laminar son proporcionales al cociente de las difusividades binarias, elevado a la potencia $2/3$ (Farquhar y Sharkey 1982).

El agua que se evapora de las superficie interna de la hoja por la transpiración, tiende a arrastrar algunas moléculas con él. En esta situación, la cantidad de CO_2 que sale fuera, por el flujo de masas, se equilibra con la de CO_2 que se difunde a través del gradiente creado (Parkinson y Penman 1970). Aunque este análisis era algo incorrecto, afortunadamente, el coeficiente de difusión binaria que relaciona el CO_2 y el vapor de agua, es aproximadamente igual al que relaciona el CO_2 y el aire. Si consideramos el efecto de la transpiración sobre el flujo de CO_2 , la fotosíntesis (o

tasa de asimilación) viene descrita por la siguiente ecuación (van Caemmerer y Farquhar 1981):

$$A = g_c (c_a - c_i) - \frac{(c_i + c_a)}{2} E \quad (V)$$

Y por lo tanto

$$c_i = \frac{(g_c - E/2) c_a - A}{g_c + E/2} \quad (VI)$$

A concentraciones de CO₂ normales (340 μl.l⁻¹), en una hoja con una tasa de transpiración de 5 mmol·m⁻²·s⁻¹, una tasa de fotosíntesis de 20 μmol·m⁻²·s⁻¹, y una conductancia al CO₂ de 0.2 mol·m⁻²·s⁻¹, el efecto de la transpiración será disminuir la c_i en 7 μl.l⁻¹ respecto a lo calculado por la ecuación (III) (Farquhar y Sharkey 1982).

Como concentración de CO₂ en los espacios intercelulares (c_i), se considera la de los lugares de evaporación dentro de la hoja. En base a observaciones experimentales (Meidner 1975), analogías con la evaporación (Cowan 1977) y cálculos (Rand 1977, Tyree y Yianoulis 1980), se cree que la mayor parte de la evaporación tiene lugar en las proximidades inmediatas al estoma. El CO₂ se ha de difundir, a continuación, a través de los espacios aéreos intercelulares. Esto puede hacer suponer que la c_i calculada es una sobreestimación de la concentración media de CO₂, alrededor de las células del mesófilo (Meidner 1975). Sin embargo, Laisk 1977 (Ref. Farquhar y Sharkey 1982) y Sharkey y col. (1981) han verificado experimentalmente la validez del cálculo de la c_i. Bajo condiciones en que el intercambio gaseoso tiene lugar simétricamente, a través de ambas epidermis, la diferencia de p(CO₂) entre los lugares de evaporación y el centro de la hoja puede ser aproximadamente de 1.5-2.5 μbar (Jarvis y col. 1966, Ref. Jarvis 1971, Farquhar y Sharkey

1982).

1.1.1.1. LIMITACION ESTOMATICA DE LA FOTOSINTESIS.

En hojas con diferente capacidad fotosintética, en función de sus condiciones de desarrollo (luz, temperatura, régimen hídrico, etc), los valores de fotosíntesis neta, a saturación de luz, y los de conductancia estomática varían coordinadamente, en relación con la capacidad fotosintética intrínseca. En consecuencia, la conductancia estomática, en cada caso, sólo impone una limitación relativamente pequeña a la fotosíntesis neta, a saturación de luz (Björkman 1981, Farquhar y Sharkey 1982). Esta adaptación de los valores de conductancia estomática a la capacidad fotosintética es un factor importante. Permite la total expresión de una capacidad fotosintética determinada, con una transpiración mínima (Björkman 1981, Farquhar y Sharkey 1982).

Los resultados experimentales sobre la contribución del estoma a limitar la fotosíntesis son abundantes:

A bajas irradiancias las tasas de fotosíntesis se reducen. Aunque los estomas cierran hasta cierto punto, la "limitación estomática" de la fotosíntesis se reduce (Farquhar y von Caemmerer 1982, von Caemmerer y Farquhar 1981). Los estudios con plantas crecidas a bajas intensidades de luz llevan a conclusiones similares (von Caemmerer y Farquhar 1981). Wong (1979) (Ref. Farquhar y Sharkey 1982), encuentra que la fotoinhibición reduce la tasa de fotosíntesis y la conductancia estomática, con pocos cambios en la $p(\text{CO}_2)$ intercelular.

Al descender los niveles de nutrición nitrogenada, la tasa de fotosíntesis y la conductancia estomática bajan (von Caemmerer y Farquhar 1981, Wong 1979), descendiendo la "limitación estomática".

En Xanthium strumarium, un tratamiento previo con frío reduce la conductancia estomática y la tasa de asimilación, pero incrementa la $p(\text{CO}_2)$ intercelular (Drake y Raschke 1974). El cierre estomático es, por tanto, de importancia secundaria.

Dubbe y col. (1978) calculan que aplicando ABA (10^{-5}M) en Xanthium strumarium la "limitación estomática" aumenta del 12 al 29%.

Los resultados experimentales no apoyan una similitud de efectos entre el ABA y el estrés hídrico. En los casos donde la $p(\text{CO}_2)$ intercelular es más superior durante el estrés hídrico que en los controles (Farquhar y col. 1980, Radin y Ackerson 1981, Wong y col. 1979), a pesar de reducirse la conductancia estomática, este factor es de importancia secundaria. El efecto inicial del estrés hídrico parece ser una reducción en la capacidad de regeneración de la RuBP; mientras que la región de respuesta lineal entre $p(\text{CO}_2)$ en los lugares de carboxilación y la tasa de fotosíntesis (ecuación (I)) inicialmente no estuvo afectada (Farquhar y Sharkey 1982). En consecuencia, la $p(\text{CO}_2)$ intercelular se reduce, pero la "limitación estomática" es menor que en plantas control. La explicación es que la tasa de fotosíntesis en las plantas sometidas a estrés tiende a saturarse a $p(\text{CO}_2)$ más bajas (von Caemmerer y Farquhar 1981, Farquhar y Sharkey 1982). Así pues,

el factor primordial, en todos los casos en que el estrés hídrico induce una reducción en las tasas fotosintéticas, parece ser una reducción en la capacidad del mesófilo (Mooney y col. 1977, Jones 1973, Farquhar y Sharkey 1982).

La reducción en la conductancia estomática, por una disminución en la presión ambiental de vapor (humedad), si que parece ser la causa primaria de la reducción en la tasa de fotosíntesis. (Farquhar y Sharkey 1982). Sin embargo, Ball y col. (Ref. Farquhar y Sharkey 1982) encuentran que la capacidad para la regeneración de la RuBP se puede reducir por causa de elevadas transpiraciones.

Así pues, excepto por causa del ABA, una disminución de la humedad ambiental, o algún efecto transitorio, la reducción en la conductancia estomática raramente es la causa básica en la disminución de las tasas de fotosíntesis, provocada por diversos motivos (Farquhar y Sharkey 1982).

Por tanto, parece que la función básica de los estomas es minimizar la pérdida de agua. (Cowan 1977); mientras sólo marginalmente limita la asimilación de carbono (Farquhar y Sharkey 1982).

Como consecuencia, los ajustes de la apertura estomática a corto plazo, así como los de la frecuencia y dimensiones estomáticas (ver apartado 1.2.), tienden a mantener relativamente constante la $p(\text{CO}_2)$ en los espacios intercelulares (Wong 1979, Björkman 1981, Farquhar y Sharkey 1982).

En este sentido, se explican las correlaciones observadas entre la densidad estomática y las ta

sas fotosintéticas (Yoshida 1979). Austin y col. (1982) la encuentran entre distintas especies de trigo. Frecuentemente una elevada capacidad fotosintética y/o de crecimiento está relacionada con altas densidades estomáticas (Beakbane y Majunder 1975, Yoshida 1979). Mott y col. (1982) indican que las plantas anfiestomáticas están asociadas a elevadas tasas fotosintéticas.

1.1.2.-CONDUCTANCIA/RESISTENCIA DEL MESOFILO.

El CO₂, después de alcanzar una célula en la interfase entre los espacios intercelulares y el mesófilo, se disuelve en el agua presente en los poros de la pared celular. Una vez en la fase líquida, diferentes procesos participan en el transporte de CO₂ (tanto en la forma molecular como de bicarbonato) (Catský y Tichá 1982, Longstreth y col. 1980).

Por motivos prácticos, la fase líquida de la vía de difusión del CO₂, a pesar de incluir el proceso de carboxilación, se estudia como la fase gaseosa. Es decir, como una simple difusión, empleándose unidades de conductancia/resistencia a la difusión (Jarvis 1971, Longstreth 1980, Patterson 1978, Nobel 1980, Nobel y Longstreth 1981).

El coeficiente de difusión en la fase líquida es una 10⁴ veces menor que en la fase gaseosa. No obstante, la conductancia en la fase líquida o conductancia del mesófilo, expresada por unidad de área foliar, es de parecido orden de magnitud que la conductancia en la fase gaseosa. La razón es la pequeña distancia a atravesar (pared celular-punto de carboxilación), y

la elevada superficie interna (interfase) (Ref. Nobel y Longstreth 1981, Catský y Tichá 1982).

La conductancia del mesófilo puede estudiarse bastante adecuadamente, considerándola sólo como como la conductancia (o resistencia) residual global. Esta incluye el transporte ó transferencia del CO₂ y la carboxilación (Jarvis 1971):

$$A = \frac{\Delta c}{r_a - r_s - r_M} \quad g_M = 1/r_M \quad (\text{VII})$$

Dónde:

Δc ...es la diferencia en la concentración de CO₂, entre el aire del ambiente (c_a) y después de la carboxilación (c_{int})

r_M ...resistencia del mesófilo o intracelular (residual)

r_s ...resistencia estomática - intercelular (esta última por lo ya visto es insignificante)

r_a ...resistencia de la capa adherida de aire

De forma similar, considerando la conductancia:

$$A = g_M (c_i - c_{int}) = g_M (C_i - C_{int}) / P \quad (\text{VIII})$$

Esta ecuación es la más empleada de las dos ((VII), (VIII)) para calcular la conductancia/resistencia del mesófilo (Ref. Patterson y col. 1977, 1978, Longstreth y col. 1980, Nobel 1980, Nobel y Longstreth 1981, Catský y Tichá 1982).

Como mínimo se pueden considerar tres variaciones metodológicas (a partir de la ecuación (VI), para calcular la conductancia/resistencia del mesófilo (Longstreth y col. 1980): 1) la conductancia "residual", asumiendo que $c_{int}=0$ (Nobel y col.

1975); 2) la pendiente inicial de la relación entre la tasa de fotosíntesis y c_{int} (Jarvis 1971); 3) la pendiente de la línea que une el punto de compensación (Γ) con la tasa de fotosíntesis a concentración ambiente de CO_2 , utilizando de nuevo la relación A/c_{int} del 2º caso (ver figura 1a) (Longstreth y Nobel 1979). El tercer método, aunque algo artificial, es el único que considera tanto el punto de compensación del CO_2 como la tasa de fotosíntesis a concentraciones de CO_2 ambientales. (Longstreth y col. 1980).

Sin embargo Gaastra (1959) denominaba a la resistencia a la difusión en la fase líquida (pared celular, plasmalema, citoplasma, membranas cloroplásticas, y estroma), como resistencia del mesófilo. Por tanto, separa los procesos puramente difusivos de los bioquímicos (carboxilación, etc.):

$$A = \frac{c_a - c_c}{r_a + r_s + r_m} \quad (IX)$$

Dónde:

c_c ...concentración de CO_2 en el lugar de carboxilación.

r_m ...resistencia del mesófilo (exclusivamente a la difusión en la fase líquida).

Autores como Farquhar y Sharkey (1982) apoyan esta distinción, acuñando el término de "resistencia a la carboxilación" al referirse a la componente puramente bioquímica. Otros autores como Catský y Tichá (1982) utilizan el término de resistencia intracelular, resistencia del mesófilo (o indistintamente ambos) para referirse a la resistencia residual (suma de la difusión en la fase

se líquida y de los procesos bioquímicos de la fotosíntesis). La mayoría de autores aun emplea el término de resistencia del mesófilo (r_M) para referirse a la resistencia conjunta de ambos tipos de procesos (Ref. Patterson y col. 1977, 1978, Longstreth y col. 1980, Nobel 1980, Nobel y Longstreth 1981); aunque se está abandonando paulatinamente (Ref. Catský y Tichá 1982, Farquhar y Sharkey 1982) (Tanto en la Introducción, como en los Resultados de esta Tesis se ha utilizado y citado a la r_m en su sentido clásico).

Farquhar y Sharkey (1982) basándose en las ecuaciones (I) y (IX), separa los dos componentes de la r_M , refiriendo la tasa de fotosíntesis en función de:

$$A = \frac{C_a - \Gamma}{(r_a + r_s + r_m + (Pk)^{-1}) P} \quad (X)$$

Dónde:

P....es la presión atmosférica

k....es la eficiencia de carboxilación (ver ec.(I)).

C_a ... $p(CO_2)$ en el aire externo.

$(Pk)^{-1}$ se puede considerar como una especie de "resistencia a la carboxilación", aunque no hay una analogía real entre la resistencia y la cinética enzimática.

En condiciones de $p(CO_2)$ atmosférica; saturación luminosa y óptimo térmico, la $p(CO_2)$ en los lugares de carboxilación está algunas veces dentro o cerca de la región "lineal. (ver fig.1). Sin embargo, normalmente la $p(CO_2)$ en los espacios intercelulares está justo (y frecuentemente fuera) de la región "lineal". La razón está en las limitaciones para la regeneración de la RuBP o en la curvatura inherente en la cinética de la RuBP carboxilasa-oxigenasa (Fig. 1) (Farquhar y Sharkey 1982).



1.1.2.1. COMPONENTES DE LA CONDUCTANCIA/RESISTENCIA DEL MESOFILO.

La contribución de las propiedades celulares a la g_M puede separarse de las anatómicas mediante el empleo de la conductancia celular (g_{cell}), y el cociente entre la superficie de pared celular del mesófilo y el área foliar (A_{mes}/A):

$$g_M = g_{cell} \cdot (A_{mes}/A) \quad (XI)$$

La conductancia celular (g_{cell}) incorpora todos los factores intracelulares, incluyendo la difusión a través de la pared celular, membranas, etc, así como los factores químicos y bioquímicos (Longstreth y col. 1980, Nobel 1980, Nobel y Longstreth 1981).

Generalmente la conductancia del mesófilo se considera integrada por las conductancias de transporte, carboxilación y excitación. Esta última componente se considera en condiciones de luz limitantes (Ref. Catský y Tichá 1982).

1.1.2.1.1. IMPORTANCIA RELATIVA DE LOS COMPONENTES DE LA CONDUCTANCIA/RESISTENCIA DEL MESOFILO.

Según Catský y Tichá (1980), (1982), utilizando el modelo de Chartier (1970) en hojas primarias de Phaseolus vulgaris, parece que el componente de transporte es la parte principal de la resistencia del mesófilo (r_M). Los trabajos de Nobel y col. (Refs. Nobel 1980, Nobel y Longstreth 1981, ver apartado 1.3.1.1.) también confieren gran importancia a las características anatómicas (ver ec. (XI)), y de transporte intracelular.

Sin embargo, hay pocas evidencias de que las diferencias en la capacidad fotosintética, entre especies, puedan atribuirse a diferencias en el cociente A^{mes}/A (Ref. Björkman 1981, ver apartado 1.3.1.1.).

Así mismo, tampoco existen pruebas concluyentes de que la mayor limitación a la fotosíntesis, en C_3 , esté causada por la transferencia difusiva del CO_2 de los espacios intercelulares a los cloroplastos (en condiciones ambientales naturales) (Björkman 1981). Incluso, recientes resultados experimentales aportarían pruebas en contra. En este sentido, Farquhar y von Caemmerer (1982) indican que la concentración de CO_2 en los lugares de carboxilación (c_c) se aproxima a la de los espacios intercelulares (c_i) mucho más de lo que Gaastra (1959) supuso. Por lo tanto, la resistencia de la componente del transporte en la fase líquida (r_m según Gaastra 1959, ec. (IX)), podría ser despreciada para la mayoría de situaciones previstas por los modelos de fotosíntesis. Estas conclusiones se apoyan en las determinaciones de los cocientes C^{13}/C^{12} en una amplia gama de plantas C_3 . Durante la fotosíntesis tiene lugar una discriminación en contra del isótopo más pesado (C^{14}). Por consiguiente, la planta se enriquece con el isótopo más ligero (C^{13}) (Ref. Björkman 1981, Farquhar y col. 1982, Waller y Lewis 1979).

Según O'Leary (1981), la base de esta discriminación radicaría básicamente en la reacción de carboxilación. Utilizando un valor promedio del 32 ‰ para la discriminación por la RuBP carboxilasa-oxigenasa, una $p(CO_2)$ externa de 330 μ bar, y una $p(CO_2)$ intercelular de 220 μ bar,

Farquhar y col. (1982) han calculado que la discriminación total sería del 22.8%. Este resultado coincide con el de la discriminación media para las plantas C_3 (alrededor de un 22.5%). Por lo tanto, parece que la resistencia al transporte difusivo, entre los espacios intercelulares y los lugares de carboxilación en los cloroplastos, es despreciable. (Ref. Osmond y col. 1982).

Las correlaciones entre las tasas de fotosíntesis neta y el contenido en RNA, nitrógeno proteico, metabolismo proteico (Ref. Catský y Tichá 1982, Evans 1983, ver apartado 1.3.3.2.) durante la ontogenia, también apoyarían indirectamente estas conclusiones.

1.1.2.1.2. CONDUCTANCIA/RESISTENCIA DEL MESOFILO EN PLANTAS C_4 .

La conductancia del mesófilo en las plantas C_4 es de diferente clase y mayor magnitud que en las plantas C_3 (Ref. Catský y Tichá 1982, Osmond y col. 1982). Como el CO_2 transportado desde la atmósfera es carboxilado con ayuda de la PEP carboxilasa, la concentración de CO_2 en los lugares de carboxilación puede ser considerablemente menor que en las plantas C_3 (Catský y Tichá 1982). Así pues, la escasa resistencia del mesófilo (r_M), característica de plantas C_4 , puede incluir una resistencia química o de carboxilación muy pequeña (Ludlow y Wilson 1971), que representaría sólo la carboxilación catalizada por la PEP carboxilasa (Catský y Tichá 1982).

Por tanto, con el transporte de carbono en las plantas C_4 ("bomba de CO_2 ") se obtiene

una resistencia de carboxilación muy pequeña. Sin embargo, la componente del Ciclo de Calvin, en las mismas, puede alcanzar valores similares a los de las plantas C_3 (Catský y Tichá 1981, 1982).

1.1.2.1.3. CONDUCTANCIA/RESISTENCIA AL TRANSPORTE EN LA FASE LIQUIDA.

Es difícil separar la componente de transporte de la puramente enzimática y fotoquímica. Normalmente, los intentos realizados (ver ec. (IX)) ignoran la naturaleza de las fuentes y sumideros de CO_2 (Farquhar y Sharkey 1982, Catský y Tichá 1982). No se han localizado con certeza los lugares (dentro de la vía principal del flujo de CO_2), en que el CO_2 de la fotorespiración, así como el de la respiración de las células no fotosintéticas, se integran (Catský y Tichá 1982). Respecto a la difusión del CO_2 desde la mitocondria al cloroplasto no parece que sea grande, pues estos orgánulos están muy próximos. Además, la tasa mitocondrial de evolución del CO_2 probablemente es sólo una pequeña parte de la tasa de carboxilación de la RuBP, en la mayoría de los casos (Farquhar y Sharkey 1982).

Sin embargo, se han realizado varios intentos para separar la conductancia para el transporte de CO_2 de la conductancia química o de "carboxilación" (Catský y Tichá 1982). Lo más frecuente es analizar, mediante un modelo matemático, la curva que relaciona la fotosíntesis neta respecto a la irradiancia o a la concentración de CO_2 ambiental, el cual exprese tanto el transporte de CO_2 , como los procesos bioquímicos (Chartier y col. 1970, Jones y Slatyer 1972, Chabot y Chabot 1979, Farquhar y von Caemmerer 1982).

Otro sistema para intentar estimar la importancia relativa de los dos componentes principales de la g_M se ha basado en el análisis de los parámetros anatómicos y citológicos de la ruta que el CO_2 efectúa dentro de la hoja. Rakhi (1971) estimaba la componente de transporte de la conductancia del mesófilo (g_M) como:

$$g_M(\text{anat}) = D \cdot S \cdot \beta \cdot K \cdot L^{-1} \quad (\text{XII})$$

Dónde:

- $g_M(\text{anat})$...componente de transporte de la g_M
- D.....coeficiente de difusión del CO_2 en agua.
- S.....cociente entre la superficie interna y externa de la hoja ($=A^{\text{mes}}/A$)
- βcoeficiente de solubilidad del CO_2 en agua.
- K.....porción de la superficie interna de la hoja cubierta por cloroplastos.
- L.....distancia media de la superficie de las células del mesófilo a los cloroplastos (= distancia media del recorrido, en la fase líquida, del CO_2 , desde la interfase a los lugares de carboxilación).

1.1.2.1.3.1. PAPEL DE LA ANHIDRASA CARBONICA.

El CO_2 , después de disolverse en el agua de los poros de la pared celular, se transporta principalmente como HCO_3^- . La conductancia para el transporte de iones a través de una membrana lipídica es muy baja. De acuerdo con Nobel (1974), para la transferencia del HCO_3^- , puede ser de $2 \cdot 10^{-4} \text{ mms}^{-1}$. Mediante experimentos con modelos,

se ha podido ver que el CO_2 se transporta a través del plasmalema y de las membranas cloroplásticas, presumiblemente en forma molecular. Las conductancias observadas son del orden de $2-3 \text{ mms}^{-1}$ (Catský y Tichá 1982).

Un papel importante, en este facilitamiento de la difusión lo puede jugar la anhidrasa carbónica, catalizando la lenta reacción $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3$ ($t_{1/2} = 14\text{s}$). Esta enzima se ha encontrado en las plantas C_3 , inicialmente en el citoplasma y posteriormente también en cloroplastos (Waygood y Clendenning 1951, Eversson y Slack 1968, Ref. Catský y Tichá 1982, Poincelot 1979).

1.1.2.1.4. RELACION ENTRE LA CONDUCTANCIA DE CARBOXILACION Y LA RuBP CARBOXILASA-OXIGENASA.

En condiciones de saturación luminosa se considera que el componente químico de la conductancia del mesófilo (g_M) es proporcional a la actividad carboxilativa (Tenhunen y col. 1980).

Si expresamos la carboxilación como $\text{CO}_2 + \text{A} \xrightarrow{\text{K}}$ ACO_2 , entonces la conductancia "química" viene dada por la ecuación de Acock y col. (1971) (Ref. Catský y Tichá 1982):

$$g_x = h \cdot K \cdot A \quad (\text{XIII})$$

Dónde:

g_x ... es la componente "química" de la g_M (hasta cierto punto coincidiría con la P_k de la ecuación (X)).

h ... es el grosor del mesófilo (mm).

A ... es la concentración del aceptor ($\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$).

K ... es la tasa constante asociada con la enzima ($\text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$).

Tenhunen y col. (1980) indican que el concepto de g_x puede ser confuso. Sin embargo, es un parámetro bastante utilizado por la literatura sobre el tema (Ref. Catský y Tichá 1982).

1.1.2.1.5. RELACION ENTRE LA CONDUCTANCIA DE EXCITACION Y LA EFICIENCIA FOTOQUIMICA.

A bajas irradiancias, la tasa de carboxilación no está limitada por la magnitud del transporte de CO_2 hacia los lugares de carboxilación, en los cloroplastos, pero si por la tasa de transferencia energética, es decir: por la magnitud de las reacciones fotoquímicas (Farquhar y Sharkey 1982, Catský y Tichá 1982, ver inicio de la Introducción).

Esta limitación de la fotosíntesis neta puede ser expresada por la resistencia de excitación, o su inverso conductancia (Ludlow y Wilson 1971, Jarvis 1971):

$$g_e = \alpha \cdot I / C_c \quad (XIV)$$

Dónde:

g_ees la conductancia de excitación.

αes la eficiencia fotoquímica.

Ies la irradiancia.

C_ces la concentración de CO_2 en la superficie de los cloroplastos.

L.2.- FACTORES ANATOMICOS Y MORFOLOGICOS QUE CONDICIONAN LA CONDUCTANCIA/RESISTENCIA ESTOMATICA.

La dependencia de la conductancia/resistencia estomática frente a las dimensiones, geometría y densidad estomáticas, viene expresada, para estomas más o menos circulares, por la ecuación de Penman y Schofield (1951) (Refs. Wild y Wolf 1980, Tichá 1982):

$$r_s = \frac{l}{n \cdot D} \left(\frac{d}{\pi \cdot a \cdot b} + \frac{l}{2 \cdot \sqrt{a \cdot b}} \right) \quad (\text{XV})$$

Dónde:

r_ses la resistencia estomática a la difusión (s/cm)
 a , bsemilongitud y semianchura de la apertura estomática
 ndensidad estomática (número estomas/cm²)
 dprofundidad del tubo estomático (cm)
 Dcoeficiente de difusión en el aire (cm²/s), del vapor de agua (0.258) o del CO₂ (0.165) (Wild y Wolf 1980, Solárová y Pospíšilová 1983).

La anterior ecuación, ha sido empleada por diferentes autores, en sus trabajos: Wild y Wolf (1980), Tichá (1982), Yoshida (1978), Lloyd y Woolhouse (1978), Solárová y Pospíšilová (1983).

Para estomas más alargados se emplea la fórmula de Parlange y Waggoner (1970), utilizada por Tichá (1982):

$$r_s = \frac{l}{n \cdot D} \left(\frac{d}{\pi \cdot a \cdot b} + \frac{\ln(4a/b)}{\pi \cdot a} \right) \quad (\text{XVI})$$

La fórmula recíproca, de la conductancia estomática sería: (Solárová y Pospíšilová 1983)

$$g_s = \frac{D \cdot n}{l} \left(\frac{\pi \cdot a \cdot b}{d} + \frac{\pi \cdot a}{\ln(4a/b)} \right) \quad (\text{XVII})$$

Así pues, la conductancia estomática varía en función del número, forma y amplitud de apertura de los estomas. Este último parámetro varía dependiendo de la movilidad de las células de guarda, y ésta es función de factores ambientales e internos. (Farquhar y Sharkey 1982).

El parámetro anatómico básico, que determina en un momento dado la resistencia/conductancia estomática, es la anchura del poro estomático. (Farquhar y Sharkey 1982, Björkman 1981). La resistencia estomática aumenta exponencialmente al disminuir la anchura del poro (sigue una curva hipérbolica). Por ello, la conductancia estomática (inversa de la resistencia) es directamente proporcional a la anchura del poro (Burrows y Milthorpe 1976, Larcher 1980). La máxima anchura del poro estomático depende de la forma y propiedades de las paredes de las células de guarda. El flujo gaseoso, a través del estoma, estará limitado por este valor.

Para muchas plantas superiores, la superficie de poro (suma del área máxima de todos los poros estomáticos), supone el 0.5-1.2% de la superficie foliar. En plantas de bosques tropicales sobrepasa el 3%; en suculentas y esclerófitas supone sólo entre el 0.1-0.3%. (Larcher 1980).

Aproximadamente el 40% de las especies de plantas superiores son anfiestomáticas. Normalmente poseen más estomas en el envés, aunque en los cereales esta relación se invierte. Alrededor del 50% de plantas superiores son hipostomáticas. Las hojas que flotan a nivel del agua son epistomáticas (Solárová y Paspílová 1983)

El intercambio gaseoso entre el mesófilo de la hoja y el ambiente no depende solo de la conductividad estomática. También interviene el resto de la epidermis foliar, cubierta por la cutícula. Diversos autores han in

tentado separar estos dos componentes, (estomático y cuticular), de la conductancia epidérmica (Slavik 1958, Ng 1978, Ref. Solárová y Pospíšilová 1983), y han observado que la resistencia cuticular alcanza en árboles de hoja ancha el 2.5-3.5%, en dicotiledóneas herbáceas el 2-10% y en gramíneas el 6-10%, del valor máximo de la conductancia epidérmica (Larcher 1980).

Todas las características estomáticas y epidérmicas no son únicamente específicas de cada especie. Varían de acuerdo con el hábitat, e incluso, dentro de una misma planta, respecto a la ontogenia y el nivel de inserción foliar (Tichá 1982).

1.2.1.-CAMBIOS ONTOGENICOS EN LAS CARACTERISTICAS ESTOMATICAS

El estoma es la principal vía para el intercambio gaseoso entre los espacios intercelulares de la hoja y la atmósfera que la rodea. Los cambios ontogénicos en sus características (densidad, dimensiones, respuesta) son unos parámetros importantes en la determinación de la actividad fotosintética de la hoja (Yoshida 1979, Tichá 1982).

1.2.1.1.DENSIDAD ESTOMATICA

La densidad estomática, en plantas herbáceas, aumenta en ambas superficies foliares (si son presentes), durante la expansión de la hoja. Paralelamente se inicia la formación del estoma (Schoch y Zinsou 1975, Gay y Hurd 1975, Wild y Wolf 1980). Posteriormente desciende, al principio rápidamente, y después, hacia el final de la vida de la hoja, más y más lentamente. En cierto punto del desarrollo foliar, la división de los estomas cesa, pero su maduración continua (Lurie 1977). Corrientemente no se estudia el período de iniciación estomática. Como consecuencia, solo se observa un descen

so de la densidad estomática, en función de la edad (Rawsson y Craven 1975, Tschakalova y Hoffmann 1976, Tschakalova 1976, Sesták y col. 1978, Sarada y Rajeswara 1980).

El modelo de desarrollo de la densidad estomática no variaba al modificarse las condiciones ambientales. Sin embargo, los valores absolutos de la densidad estomática eran diferentes (Tschakalova 1976, con frío y humedad) (Lurie 1977, con oscuridad).

La evolución del cociente densidad estomática del haz/densidad estomática del envés es diferente, dependiendo del tipo de planta (Tschakalova 1976, Sesták y col. 1978, Wild 1979, Wild y Wolf 1980, Sarada y Rajeswara 1980, Rawson y Craven 1975). Por tanto, existe un desarrollo distinto de la densidad estomática del haz respecto al envés, en función de la planta. En este sentido, Gay y Hurd (1975) indican que en hojas de tomate, la iniciación del desarrollo estomático comienza antes en la epidermis del haz. Además, los estomas iniciales inhibirían en las células adyacentes su transformación. (Gay y Hurd 1975).

1.2.1.2. DIMENSIONES ESTOMÁTICAS

Los estomas de hojas primarias de Sinapis alba doblan su longitud durante la ontogenia (Wild y Wolf 1980). Resultados similares se han obtenido en Phaseolus vulgaris (Solárová 1973). Sin embargo, Tschakalova (1976), en esta última especie, sólo observa un pequeño aumento en la longitud y anchura, seguido por un ligero descenso. En hojas de avena no se han observado cambios (Frommhold 1972). En hojas de tabaco, la superficie media de los estomas aumenta (Rawson y Craven 1975).

Normalmente los estomas del envés son mayores que los del haz (Rawson y Craven 1975, Tschakalova 1976 1976). Estos últimos alcanzan antes su tamaño final (Rawson y Craven 1975).

En trigo, Tschakalova y Hoffman (1976), no encuentran correlación entre la edad de la hoja y el tamaño de los estomas o de sus poros.

El número de estomas por hoja aumenta sólo en los días siguientes al inicio del desarrollo foliar. Se estabiliza poco después en un valor más o menos constante (Gay y Hurd 1975).

1.2.2.-LAS CARACTERISTICAS ESTOMATICAS EN RELACION AL NIVEL DE INSERCIÓN FOLIAR.

Las diferencias entre las sucesivas hojas de una misma planta no reflejan, necesariamente, variaciones debidas a la edad (Tichá 1982; ver apartado de la introducción 1.3.2.)

Las variaciones en la densidad y el tamaño estomático, en función del nivel de inserción foliar, se pueden expresar como gradientes (Tichá 1982).

1.2.2.1.DENSIDAD ESTOMÁTICA

Normalmente la densidad estomática aumenta desde las hojas basales a las apicales (en ambas epidermis) (Bressau y col. 1978, Ackerson 1980, Carlson y col. 1981, Tichá 1982). Los resultados en trigo muestran la misma tendencia (Frank y col. 1973, Dunstone y col. 1973). Así mismo, en árboles aumenta hacia el ápice de la corona (Aussena y Ducrey 1977, Marshall y Kozlowski 1977).

Resultados opuestos han sido obtenidos en; Phaseolus vulgaris (Tschakalova (1976) y en Triticum aestivum (Tschakalova y Hoffmann 1976 de la 1ª hoja a la 9ª o de bandera; Frimmel 1977 de la 1ª hoja a la 6ª o de bandera).

En plantas de disposición foliar helicoidal, existe gran variabilidad en la densidad estomática (respecto al nivel de inserción) (Harte y Hansen 1971, Eliás y Kozinka 1976).

Gay y Hurd (1975) no encuentran diferencias entre las sucesivas hojas de Lycopersicon esculentum, crecidas en ambiente controlado. Lugg y Sinclair (1979), para Glycine max en condiciones de campo, encuentran los valores máximos en las hojas de inserción media.

Por lo general, la densidad estomática del haz y del envés presenta la misma tendencia respecto a los gradientes de inserción (Turner y Begg 1973, Tschakalova 1976, Yoshida 1978). Tschakalova y Hoffmann (1976) encuentran los mismos resultados para Triticum aestivum. Sin embargo, Lugg y Sinclair (1979) observan variaciones del cociente densidad estomática del haz/envés en las sucesivas hojas.

1.2.2.2. DIMENSIONES ESTOMATICAS

Normalmente se observa una evolución opuesta a la de la densidad estomática (Ref. Tichá 1982). Disminuye de tamaño desde las hojas basales a las apicales (Tan y Dunn 1975, Eliás y Kozinka 1976, Marshall y Kozlowski 1977, Papánek 1978, Elkiey y col. 1979, Sandanam y col. 1981). En trigo, Tschakalova y Hoffmann (1976) y Frimmel (1977), también observan esta evolución opuesta.

Sin embargo, en algunas especies sólo se han registrado ligeras variaciones en la longitud estomática: Avena sativa (Frommhold 1971), Medicago sativa (Ptácková 1977).

El número total de estomas por hoja aumenta desde las hojas de la base hasta las de inserción media. Seguidamente vuelve a descender (Pazourek 1973, Yoshida 1978, Tichá 1982 y Dustone y col. 1973; este último en trigo).

1.2.3.-DISTRIBUCION DE LOS ESTOMAS EN LA LAMINA.

Incluso dentro de una misma lámina foliar, la densidad estomática es muy variable (Pazourek 1966). De todas formas, el desarrollo estomático parece tener lugar sobre toda la lámina, y no en áreas preferentes (Lurie 1977).

Normalmente, la densidad estomática superior se encuentra cerca de la punta. La densidad menor hacia la base; mientras que la densidad de la zona media es intermedia (Pazourek 1970, Eliás y Kozinka 1976, Braga 1977, Yoshida 1978, Miranda y col. 1981) (para hojas con expansión basal).

En otras especies, la densidad estomática máxima se encuentra en la base, decreciendo hacia el ápice (Liang y col. 1975, Majid y col. 1978). En hojas alargadas la densidad estomática desciende en la región apical. Sus valores máximos se encuentran en la zona media (Pazourek 1973, Queiroz de Vilhena 1978). En otros casos, sólo se han encontrado diferencias mínimas: en Vitis (Düring 1980), Magnolia y Ligustrum (Kutík 1973). También existen diferencias entre el borde y el centro de la lámina, pero normalmente no son significativas (Düring 1980).

Tanto en el haz, como en el envés, los gradientes en la densidad estomática son análogos (Tan y Dunn 1975; Majid y col. 1978, Yoshida 1978); aunque también se han descrito tendencias opuestas (Pazourek 1973, McCree y Davis 1974, Milthorpe y Penman 1967; este último en trigo).

Los gradientes de longitud estomática normalmente son opuestos a los de densidad (Tam y Dunn 1975, Eliás y Kozinka 1976). En algunos casos, las diferencias en la longitud del estoma y de la célula de guarda, son muy pequeñas (Kutik 1973, Majid y col. 1978).

Como resultado de todos estos cambios, la relación superficie de un poro/área foliar correspondiente se mantiene constante en toda la lámina (Tichá 1923).

Los gradientes de densidad y tamaño estomático, dentro de la lámina, difieren en función del nivel de inserción foliar. (Tichá 1970, Pazourek 1973, Huzulák y Eliás 1975). En hojas compuestas, las diferencias de densidad estomática entre foliolos parecen pequeñas (Ptácková 1977).

1.2.4.-EFECTO DE LOS FACTORES AMBIENTALES SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS ESTOMÁTICAS.

La evolución ontogénica del tamaño y densidad estomáticas viene influida (normalmente de forma cuantitativa), por los factores ambientales. Así mismo, las diferencias por el nivel de inserción foliar pueden modificarse (Boardman 1977, Tichá 1982).

1.2.4.1. INTENSIDAD DE LUZ.

Normalmente, la densidad estomática y el número total de estomas por hoja, están correlacionados positivamente con la irradiancia (Hanan 1971, Björkman 1975,

Gay y Hurd 1975, Volkenburg y Davies 1977, Wild 1979, Jarvis y Morison 1981, Jurik y col. 1982) (Refs. Boardman 1977, Tichá 1982). Para trigo los resultados son similares (Dunstone y col. 1973, Kazemi y col. 1978).

El modelo de la evolución ontogénica en la densidad estomática, parece que no es afectado cualitativamente por las condiciones de irradiancia durante el crecimiento. Por contra, la magnitud de la densidad estomática sí que varía (Wild y Wolf 1980).

Una mayor irradiancia, durante el crecimiento, provoca un aumento en el cociente frecuencia estomática haz/envés (Volkenburg y Davies 1977, Sesták y col. 1978, Wild y Wolf 1980).

En hojas totalmente expandidas, la variación en los niveles de irradiancia afectó especialmente a las más jóvenes (Gay y Hurd 1975, Wild y Wolf 1980).

Así mismo, parece que existe un ligero efecto positivo de los niveles de radiación, durante el crecimiento, sobre el tamaño de los estomas (Volkenburg y Davies 1977, Wild y Wolf 1980).

El gradiente de densidad estomática, respecto al nivel de inserción foliar, parece que no se altera al variar la intensidad de luz durante el desarrollo (Pazourek 1970, Gay y Hurd 1975). Sin embargo, al aumentar la irradiancia puede acentuarse este gradiente (Pazourek 1970, 1973). A bajas irradiancias la pendiente del gradiente se aplanan (Pazourek 1970, 1974).

El número total de estomas por hoja está en relación directa con los niveles de irradiancia durante el crecimiento. El gradiente se conserva en el número total de hojas respecto al nivel de inserción foliar (Pazourek 1970).

Las altas irradiancias pueden provocar la formación de hojas anfistomáticas. Lo contrario lleva a la formación de estomas en una sola cara de la hoja: hojas hipostomáticas en tomate (Gay y Hurd 1975).

1.2.4.2. TEMPERATURA

La temperatura parece estar relacionada negativamente con la densidad estomática y la longitud del poro. En términos absolutos esta relación es menos fuerte que la establecida con la irradiancia (Wilson y Cooper 1969a, Volkenburg y Davies 1977). Lo anterior está de acuerdo con la similitud en la respuesta de la planta frente a elevadas irradiancias y bajas temperaturas (Charles-Edwards y Charles-Edwards 1974, Lichtenhaler 1980). Sin embargo, Kemp y Cunningham (1981) llegan a resultados opuestos en Distichlis spicata. En trigo, Frank y col. (1973) encuentra que al pasar de 10°C a 18°C (temperatura de crecimiento) aumenta algo la densidad estomática, y de 18°C a 27°C disminuye claramente. Por otra parte, Wilson y Cooper (1969a) en Lolium perenne y Volkenburg y Davies (1977) en diversas plantas, encuentran relación entre bajas temperaturas y menores tamaños de poro.

El carácter del gradiente de densidad estomática, respecto a la inserción de la hoja, no parece que se altere. Lo mismo se observa para el número total de estomas por hoja. Los ambientes calurosos y secos aumentaban la pendiente de estos gradientes (Frank y col. 1973, en trigo).

1.2.4.3. HUMEDAD DEL SUELO, HUMEDAD DEL AIRE Y ESTRES HIDRICO.

La humedad del ambiente interno y externo de la hoja, es un factor importante en la determinación de los gradientes (de inserción foliar), de la densidad y tamaño estomático (Tichá 1982). En condiciones áridas

aumenta la densidad estomática y los gradientes de inserción foliar son más acentuados (Migahid y Abu Raya 1952, Manning y col. 1977). Los ambientes húmedos minimizan las diferencias entre sucesivas hojas (Tichá 1982).

La densidad estomática de las hojas superiores es la más afectada por el contenido hídrico de la hoja, o por el aporte hídrico. Las hojas inferiores de un tallo, al ser más turgentes que las superiores, son menos sensibles a los cambios en el contenido hídrico (Migahid y Abu Raya 1952). La duración del estrés hídrico y la época en que tiene lugar, son también importantes (Ackerson 1980).

La importancia del aporte hídrico en la planta, para la formación de los gradientes de densidad estomática, fue esbozado por Zalenskii (1904) y Salisbury (1927) (Ref. Tichá 1982). Más recientemente ha sido puesta de manifiesto por los experimentos de Migahid y Abu Raya (1952) con Vicia faba y Wilson (1977) en Panicum.

El estrés hídrico provoca un aumento en la densidad estomática, pero reduce las dimensiones y superficie de los estomas. Como consecuencia, la superficie del aparato estomático, por unidad de área foliar, o el número total de estomas por hoja no cambia (Rawson 1980).

Los gradientes de densidad estomática, dentro de una misma lámina foliar, pueden ser modificados (cualitativa y cuantitativamente) por factores ambientales como la irradiancia (Pazourek 1970, Eliás y Kozinka 1976, During 1980), el ecotipo (Pazourek 1973) y el aporte hídrico (Gindel 1969, Ref. Tichá 1962).

Otros factores biológicos y ambientales pueden modificar la densidad estomática, aunque el carácter de los gradientes de inserción se conserve: salinidad en el substrato (Gausman y Cardenas 1968, Kemp y Cunningham 1981), ploidía (Dunstone y col. 1973, Tan y Dunn 1975, Byrne y col. 1981).

1.2.4.4. EFECTO DE LOS FACTORES AMBIENTALES SOBRE EL INDICE ESTOMÁTICO.

El índice estomático es un parámetro más estable que la densidad estomática. Es el cociente entre el número de estomas por unidad de superficie (S), y el número de células epidérmicas (E) en la misma superficie ($100 \times (S/(E+S))$) (Ref. Tichá 1982). Mediante este índice se ha visto que la proporción de estomas no varía, entre hojas crecidas al sol o a la sombra (Tichá 1982).

El incremento en la densidad estomática de plantas crecidas en suelo seco, comparadas con las crecidas en húmedo; o en hojas menores en relación a las mayores, son debidas principalmente a diferencias en el crecimiento de las células epidérmicas. Esto es, a diferencias en el espaciamiento de los estomas y no en la proporción de estomas desarrollados. Las variaciones en la densidad estomática, dentro de una misma hoja, también se deben a esto (Tichá 1982)

1.2.5. -CAMBIOS ONTOGENICOS EN LA CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA MAXIMA.

No existen trabajos en que todos los parámetros estomáticos comentados anteriormente, se determinen a lo largo de la ontogenia de la hoja. Así pues, para la ontogenia foliar, se carece de estimaciones de la conductancia/resistencia estomática basadas en

la anatomía estomática (Tichá 1923).

La tendencia de los cambios ontogénicos en la conductancia/resistencia estomática, es similar a la de la fotosíntesis neta, transpiración y conductancia/resistencia del mesófilo. Aumenta hasta un valor máximo, seguido por un suave descenso (Woodward y Rawson 1976, Constable y Rawson 1980, Solárová y Pospíšilová 1983). Para trigo ha sido estudiado por Rawson y col. (1976), Jones (1977), (1979), Marshall y Biscoe (1980), Fisher y col. (1981).

La densidad estomática aumenta sólo en los estadios muy iniciales del desarrollo foliar. Posteriormente, la densidad estomática desciende a causa de la rápida expansión foliar. Paralelamente se forman nuevos estomas a partir de las células estomáticas madres, durante más o menos tiempo (Tichá 1982). En el inicio de la expansión foliar, la dilución en la densidad estomática se compensa sobradamente por el aumento en el tamaño estomático. Posteriormente, el área estomática por unidad de superficie foliar, y por tanto, también el área potencial de poro estomático descienden. Este descenso ocurre, principalmente, al final de la expansión foliar (Rawson y Craven 1975, Tichá 1982, Solárová y Pospíšilová 1983).

Estos cambios cuantitativos en las características estomáticas, aparentemente estuvieron acompañados por un fuerte y opuesto incremento en la conductancia estomática. Este incremento condujo hasta un valor máximo, alcanzado antes por la conductancia del envés. El incremento en el tamaño del poro y en la distancia entre estomas explicaría parcialmente este incremento. El factor principal es el gradual desarrollo de la capacidad del estoma a abrirse. Di-



cha capacidad, está relacionada con un incremento en la elasticidad de las paredes de las células de guarda (Solárová y Pospíšilová 1983). En algunos casos los estomas no comienzan a abrirse hasta que alcanzan su tamaño máximo (Rawson y Craven 1975, Solárová 1980, Solárová y Pospíšilová 1983).

El valor inicial de la conductancia estomática, el posterior desarrollo, su valor máximo, así como el tiempo y momento en que lo alcanza, depende de la especie y de sus condiciones de desarrollo. Los factores ambientales que influyen sobre el desarrollo del estoma repercutirán, lógicamente, sobre la conductancia/resistencia estomática (Rawson y Craven 1975, Solárová y Pospíšilová 1983).

Algunos autores encuentran asociados temporalmente los máximos de conductancia estomática, fotosíntesis neta y transpiración. Para hojas totalmente expandidas se ha observado en: Festuca arundinacea (Jewis y Woledge, Ref. Solárová y Pospíšilová 1983), Calopogonium mucunoides (Ludlow y Wilson 1971), Glycine max (Rawson y Woodward 1976), Triticum aestivum (Fisher y col. 1981). El máximo de fotosíntesis, antes de la expansión foliar, ha sido observado especialmente en dicotiledóneas: Phaseolus vulgaris (Fraser y Bidwell 1974, Catský y col. 1976), Pisum sativum (Smillie 1962, Ref. Solárová y Pospíšilová 1983), Cucumis sativus (Hopkinson 1964, Ref. Solárová y Pospíšilová 1983), Sorghum almum y Glycine javanica (Wilson y Ludlow, Ref. Ludlow y Wilson 1971), Glycine wightii (Ludlow y Wilson 1971), Nicotiana tabacum y Helianthus annuus (Rawson y Woodward 1976) y Gossypium hirsutum (Constable y Rawson 1980).

Contrariamente, en otras especies no se ha observado una coincidencia temporal entre los máximos de conductancia estomática, (en ambas epidermis), y de fotosíntesis.

sis neta: Gossypium hirsutum (Constable y Rawson 1980), Helianthus annuus (Rawson y Constable 1980), Phaseolus vulgaris (Catský y col. 1976), Sorghum almun (Wilson y Ludlow 1970, Ref. Ludlow y Wilson 1971). En otras especies no se han encontrado diferencias temporales claras. Posiblemente sea a causa de mediciones demasiado espaciadas (Solárová y Pospíšilová 1983). Por otra parte, las diferencias varietales, ambientales y de cultivo, influyen el desarrollo de la conductancia estomática (Rawson y Woodward 1976, Rawson y Constable 1980).

Los cambios ontogénicos en la conductancia estomática también dependen del tiempo de vida de la hoja (Solárová y Pospíšilová 1983). En hojas de vida corta (especialmente en las de ontogenia localizada en la fase vegetativa de la planta), la conductancia estomática desciende rápidamente (Rawson y Woodward 1976, Catský y col. 1976, Solárová 1980, Constable y Rawson 1980). En hojas de larga duración (hojas de árboles, arbustos), la máxima conductancia estomática se alcanza durante la expansión foliar, o simultáneamente a la superficie máxima. Seguidamente, este valor se mantiene constante, o desciende muy lentamente, de acuerdo con cambios en los factores ambientales: disponibilidad hídrica, ontogenia de la planta o agentes patógenos (Solárová y Pospíšilová 1983). Los seguimientos en estas hojas, por largos períodos de tiempo, son difíciles. Se acostumbra a extrapolar los resultados de hojas con distinta posición relativa (Cline y Campbell 1976, Federer y Gee 1976, Federer 1980, Roberts y col. 1981).

Los cambios en la conductancia estomática, durante la ontogenia de la planta, dependen tanto de

la edad de la hoja y de la planta, como de su estado de desarrollo (Woodward y Rawson 1976, Solárová y Pospíšilová 1983).

La conductancia estomática puede alcanzar otros máximos secundarios durante la ontogenia foliar. Normalmente están relacionados con la floración o con la formación de la semilla (Fraser y Bidwell 1974, Woodward y Rawson 1976, Lorárová y Pospíšilová 1983).

Una prolongación artificial de la vida de la hoja (decapitando la planta, o estabilizando la irradiancia primitiva de la hoja, mediante corte de hojas), comporta un retraso en el descenso de la conductancia estomática (Solárová 1980).

1.2.6.-LA CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA EN RELACION AL NIVEL DE INSERCIÓN FOLIAR.

Cada hoja se forma en una fase distinta de la ontogenia de la planta. Cada "momento ontogénico" de la planta se caracteriza por un diferente número de hojas precedentes (produciendo fotosintetizados), así como diferentes ambientes a nivel de raíz, y de agua y nutrientes disponibles. Hay que considerar también las condiciones ambientales estacionales. Incluso en una cámara de crecimiento varían ciertos factores ambientales como la irradiancia (Solárová y Pospíšilová 1983).

Los cambios en la conductancia estomática (y otros parámetros fisiológicos), a lo largo del gradiente de inserción (con mediciones simultáneas), son similares a los ontogénicos (Ref. Solárová y Pospíšilová). Sin embargo, algunos autores obtienen resultados opuestos (Scheringer y Chabot 1977, Eliás 1979).

Existen pocos trabajos en que se estudie sistemáticamente gran parte de las hojas de una planta a lo largo de varios estadios de su desarrollo (Ishihara 1979). Abundan más las mediciones de conductancia estomática de las hojas en una sola fase del desarrollo de la planta (Schlesinger y Chabot 1977, Woledge 1977, Garland y Brau-son 1977, Beadle y col. 1978, Hatfield y Carlson 1978, Düring 1978, Eliás 1979, Lurie y col. 1979 y Jones 1977; este último en trigo). Sin embargo, la mayor parte de trabajos sólo compara la conductancia estomática de 2 o 3 hojas (Ref. Solárová y Pospíšilová). En trigo podemos mencionar los trabajos de Denmead y Millar (1976), Peisker y Apel (1976), Kirkham y Smith (1978).

En las comunidades vegetales existen gradientes de factores ambientales (especialmente la irradiancia), que provocan variaciones en los factores internos. Lo anterior puede repercutir sobre el gradiente general de inserción foliar, o sobre su evolución (Kanemasu y col. 1974, Nagarajah 1975, Hatfield y Carlson 1978).

1.2.7.-HETEROGENEIDAD DE LA LAMINA EN RELACION A LA CONDUCTANCIA/RESISTENCIA ESTOMÁTICA.

Kanemasu y col. (1974) observan, en hojas de Sorghum bicolor, conductancias estomáticas menores en la base de la lámina, que en su punta. Además, las diferencias entre la conductancia estomática del haz y del envés, fueron menores en la base.

Zobel y Liu (1980), consideran que la irradiancia es responsable de las variaciones en la conductancia estomática, a lo largo de la lámina. En Elaeis

guineensis, encuentran valores superiores de conductancia estomática hacia la punta de la lámina.

1.2.8.-CAMBIOS ONTOGENICOS EN LA RESPUESTA DE LA CONDUCTANCIA/RESISTENCIA ESTOMATICA A LOS FACTORES INTERNOS Y AMBIENTALES.

Durante la ontogenia de la hoja, no sólo pueden variar las características anatómicas del aparato estomático (Tichá 1982), y los valores máximos de la conductancia estomática (Solárová y Pospíšilová 1983). También evoluciona la respuesta del estoma frente a los factores internos y ambientales (Syvertsen y col. 1981, Ackerson 1981, Solárová y Pospíšilová 1983).

1.2.8.1.CURSO DIARIO DE LA CONDUCTANCIA ESTOMATICA.

Los valores máximos diarios de la conductancia estomática, normalmente aumentan a medida que la hoja se expande. A continuación, alcanzan un máximo constante, descendiendo posteriormente durante la senescencia de la hoja. Así mismo, este máximo es mayor en las hojas superiores. Los valores máximos diurnos, y mínimos nocturnos se registran en las hojas casi totalmente expandidas. Esto es reflejo de un funcionamiento óptimo de los estomas en esta fase (Turner 1974, Burrows y Milthorpe 1976).

Durante el período de expansión foliar, los estomas cierran tan herméticamente como en las hojas maduras. Sin embargo, los estomas de hojas senescentes no cierran ni abren totalmente (Burrows y Milthorpe 1976). Krizek y Milthorpe (1973), en Xanthium strumarium, observan que, en la oscuridad,

los estomas de las hojas superiores cierran más herméticamente que los de las inferiores. Jodo (1973), encuentra en hojas superiores y medias, de Nicotiana tabacum, que los estomas abren antes del amanecer.

La apertura estomática media, así como la duración diaria de la misma, disminuye de las hojas superiores a las inferiores en Zea mays, Nicotiana tabacum y Sorghum bicolor (Jodo 1973, Turner y Begg 1973). Las máximas aperturas diarias se alcanzaban más tempranamente en las hojas inferiores de Nicotiana tabacum (Jodo 1973) y Sorghum bicolor (Kanemasu y col. 1974). En Gossypium hirsutum se han obtenido resultados opuestos (Ackerson 1981).

Después de alcanzar la máxima apertura diaria, los estomas de las hojas inferiores de Oryza sativa (Ishihara y col. 1978a, 1978c, Ishihara 1979), Sorghum bicolor (Kanemasu y col. 1974) y Zea mays (Turner 1975). Las diferencias en el curso diario de la conductancia estomática de Oryza sativa, en relación al nivel de inserción foliar, fueron más acentuadas en los días soleados (Ishihara y col. 1971, Ref. Ishihara y col. 1978a). Respuestas similares se han obtenido al eliminar parcialmente el sistema radicular (Ishihara y col. 1978b). En el mismo sentido, bajo un ligero estrés hídrico, las hojas inferiores de Nicotiana tabacum muestran cierre estomático al mediodía (Jodo 1973).

En Oryza sativa, desde el ahijamiento hasta la emergencia de la panícula, los valores máximos diarios de la conductancia estomática se mantuvieron constantes (en hojas de nivel de inserción foliar similar). A partir de este momento,

los valores máximos diarios disminuyen. Además, el estoma cierra antes por la tarde (Ishihara y col. 1971, Ref. Ishihara y col. 1978a).

En condiciones ambientales adecuadas, el curso diario de la conductancia estomática está relacionado con la irradiancia. Las variaciones ontogénicas, en el curso diario de la conductancia estomática, pueden explicarse, parcialmente, por diferentes respuestas frente a la irradiancia (Solárová y Pospíšilová 1983).

1.2.8.2. INTENSIDAD DE LUZ.

El modelo de dependencia de la conductancia estomática frente a la irradiancia (Ref. Farquhar y Sharkey 1982), fue similar para hojas de edades diferentes en: Medicago sativa (Hodgkinson 1974), y Phaseolus vulgaris (Catský y Tichá 1980, Solárová 1980). Tampoco varía para hojas de diferente inserción en Zea mays (Catský y col. 1973), Triticum aestivum (Denmead y Millar 1976); o en las hojas superiores de Gossypium hirsutum, durante diferentes períodos de crecimiento (Ackerson y col. 1977).

A una irradiancia determinada, la conductancia estomática aumenta después de la aparición de la hoja. Alcanza su máximo hacia la madurez de la hoja, y desciende durante la senescencia (Turner 1974, Solárová y Pospíšilová 1983).

La hipérbola que expresa la relación entre la irradiancia y la conductancia estomática, presenta zonas de respuesta casi lineal en las hojas jóvenes y maduras, frente a las senescentes de Phaseolus vulgaris (Catský y Tichá 1980, Solárová 1980). En hojas recientemente emergidas o senescentes de

Acer rubrum y Quercus rubra (Turner y Heichel 1977), o Phaseolus vulgaris (Solárová 1980), la conductancia estomática no responde a los cambios en la irradiancia.

En Nicotiana tabacum, los cambios ontogénicos en la conductancia estomática fueron similares, independientemente del nivel de irradiancia durante el crecimiento. Únicamente, los máximos diarios de conductancia estomática, se alcanzaron algo más pronto en plantas crecidas bajo altas irradiancias (Rawson y Woodward 1976).

En un cultivo de Zea mays, las hojas de inserción inferior tenían conductancias estomáticas menores. Este efecto fue más acusado en las partes sombreadas de las hojas (Stigter y col. 1977).

1.2.8.3. ESTRES HIDRICO.

Al descender el potencial hídrico de la hoja, el cierre estomático comienza a partir de las hojas inferiores, hacia las superiores, en: Beta vulgaris (Lawlor y Milford 1975) y en Gossypium hirsutum (Jordan y col. 1975, Ackerson 1980, Radín 1981).

El potencial hídrico crítico (para el cierre estomático), fue superior en las hojas inferiores, respecto a las superiores. De forma similar, en comunidades de Nicotiana tabacum, Sorghum bicolor, Zea mays (Turner 1974a) y Picea sitchensis (Beadle y col. 1978), las hojas de los niveles inferiores presentaban el cierre estomático a potenciales hídricos mayores.

Por contra, en las hojas más jóvenes de Citrus sinensis, la conductancia estomática comienza a

descender a potenciales hídricos mayores que los de las más viejas (Syvertsen y col. 1981). Resultados similares se han obtenido en Camelia sinensis (Sandanam y col. 1981).

La disminución del potencial hídrico provocaba un incremento en los niveles de ABA de todas las hojas, pero especialmente en las superiores de Gossypium hirsutum (Jordan y col. 1975, Ackerson 1980), Oryza sativa, Pennisetum americanum y Triticum aestivum (Quarrie y Henson 1981). Por otra parte, en Phaseolus vulgaris (Eze y col. 1981), Oryza sativa, Pennisetum americanum y Triticum aestivum (Quarrie y Henson 1981), los niveles de ABA acumulados disminuían al envejecer las hojas. Parece, por tanto, que el comportamiento ontogénico en el acúmulo de ABA, (frente a un descenso en el potencial hídrico), no se corresponde con el modelo de cierre estomático inducido por un descenso en el potencial hídrico (Solárová y Pospíšilová 1983).

Bajo similares niveles de irradiancia, la respuesta de la conductancia estomática frente al potencial hídrico era diferente. Dependía de la situación de la hoja (Jordan y cil. 1975, en Gossypium hirsutum). Así pues, la respuesta del estoma al potencial hídrico, entre las hojas superiores e inferiores, estaba sólo parcialmente asociada con la irradiancia durante el desarrollo foliar. Los factores fisiológicos del envejecimiento justificaban el resto (Solárová y Pospíšilová 1983).

Las hojas de plantas más viejas, parecen presentar potenciales críticos superiores (Jones y Rawson 1979 en Sorghum bicolor). Frente a un

descenso similar del potencial hídrico, las hojas más viejas de Avena sativa disminuían más su conductancia estomática (Sandhu y Horton 1977).

Por contra, los estomas de Triticum aestivum eran menos sensibles al descenso del potencial hídrico al envejecer la planta (Frank y col. 1973), o la hoja de bandera (Jones 1977).

En Picea sitchensis el potencial crítico varió con la estación. Era mayor en julio, que en octubre y noviembre (Beadle y col. 1978).

Así pues, el potencial crítico puede variar en función de la edad de la hoja, de la planta y del nivel de inserción foliar. Sin embargo, el carácter básico de la respuesta de la conductancia estomática frente al déficit hídrico, no parece que cambie (Solárová y Pospíšilová 1983). Los resultados de Lawlor y Milford (1975) con Beta vulgaris, crecida en condiciones de humedad relativa del 100%, son una excepción. Al disminuir el potencial hídrico, la conductancia estomática en las plantas jóvenes disminuía de forma curvilínea, y en las maduras de forma lineal. En hojas de inserción media de Glycine max, la conductancia estomática desciende antes y más que en las hojas superiores (Stevenson y Shaw 1971). Por contra, tanto en las hojas jóvenes como en las viejas de Coffea arabica, disminuyó de forma similar la conductancia estomática (Nunes 1976). En las hojas pertenecientes a plantas jóvenes de Glycine max y Helianthus annuus, la conductancia estomática disminuía menos que en las plantas viejas (Sionit y Kramer 1976, Silvius y col. 1977). Resultados opues-

tos obtenía Hofäcker (1976) en Vitis vinifera, al descender la humedad del suelo.

Después de regar, la conductancia estomática se recupera más rápidamente en las hojas jóvenes que en las viejas de Triticum aestivum (Frank y col. 1973).

Al aumentar el número de períodos de estrés hídrico, los estomas de Gossypium hirsutum responden menos a las variaciones del potencial hídrico, especialmente los estomas de las hojas superiores (Ackerson 1980). En avena sativa el efecto parece ser el contrario (Sandhu y Horton 1977).

El descenso en la conductancia estomática, a causa de la salinidad del substrato, fue más pronunciado en las hojas maduras, que en las jóvenes de Nicotiana tabacum (West y Black 1978).

Básicamente, la variación en los niveles de irradiancia, sólo tiene importancia en los cambios ontogénicos de la conductancia estomática máxima diaria. Los cambios ontogénicos en la respuesta de la conductancia estomática frente a déficits hídricos transitorios, explicarían otros cambios en la evolución diaria de la conductancia estomática. Un ejemplo puede ser el descenso, por la tarde, de la conductancia estomática, en las hojas más inferiores de una planta (Solárová y Pospísilová 1983).

1.2.8.4. TEMPERATURA.

Giurgevich y Dunn (1978), (1979) indican variaciones estacionales en la respuesta de la con-

ductancia estomática, frente a la temperatura, en Spartina alternifolia. Sin embargo, no está claro si la causa fue ontogénica o provocada por cambios ambientales. Hay que considerar que la dependencia de la conductancia estomática, frente a la temperatura, es muy sensible a las condiciones térmicas existentes los días previos a la medición (Björkman y col. 1978).

1.2.8.5. APORTE DE NITROGENO Y CONCENTRACION DE CO₂.

Plantas de Glycine max, crecidas en aire enriquecido con CO₂, presentan un descenso en la conductancia estomática, especialmente en las hojas superiores (Hofstra y Hesketh 1975)

El efecto de elevadas dosis de nitrógeno (von Caemmerer y Farquhar 1981), fue más pronunciado en las hojas superiores que en las inferiores de Oryza sativa. Esto era más evidente por la mañana, hasta alcanzar la máxima apertura diaria (Ishihara y col. 1978).

1.3.- RELACIONES ENTRE LA ANATOMIA FOLIAR Y LA CAPACIDAD FOTOSINTETICA.

Al tratar las relaciones entre la anatomía de la hoja y su capacidad fotosintética, hay que considerar dos aspectos básicos (Björkman 1981) :

El primero, concierne a la cantidad de aparato fotosintético, por unidad de área foliar. En la medida en que un aumento en el grosor de la hoja, o en el peso específico foliar (SLW) refleja incrementos en el contenido de "catalizadores", potencialmente limitantes de las tasas fotosintéticas (como RuBP carboxilasa y transportadores electrónicos), por unidad de área foliar, puede esperarse que la capacidad fotosintética, a saturación de luz, también aumente. Tanto las tasas de fotosíntesis a concentraciones de CO₂ limitantes, como de saturación, pueden ser afectadas por tales cambios (refs. Boardman 1977, Björkman 1981).

El segundo, se refiere a la superficie interna total de las células del mesófilo, expuesta a los espacios intercelulares (A^{mes}), por unidad de área foliar (A): A^{mes}/A . Un incremento en el cociente A^{mes}/A implica un aumento de la superficie disponible para la transferencia por difusión del CO₂, desde los espacios intercelulares, hasta los aceptores en las células del mesófilo (lugares de carboxilación) (Nobel y col. 1975, Nobel 1976, 1977, 1980, Nobel y Longstreth 1981). Si asumimos que la conductancia de este transporte y transferencia por difusión del CO₂ es potencialmente limitante de la fotosíntesis, un aumento en el cociente A^{mes}/A puede provocar un

incremento en las tasas de fotosíntesis, bajo condiciones de presión parcial de CO_2 limitantes. Obviamente, la variación de este cociente no afectaría a la fotosíntesis neta a presiones parciales de CO_2 de saturación. (Björkman 1981, Sasahara 1982).

Por otra parte, en ausencia de cambios en el tamaño y forma de las células, un aumento en el grosor del mesófilo foliar estaría inevitablemente acompañado por un incremento proporcional de los cocientes entre el volumen del mesófilo (v^{mes}) y el área del mesófilo (A^{mes}), respecto al área foliar (A); mientras que los cocientes del v^{mes} y A^{mes} , respecto al volumen foliar (V), pueden permanecer constantes (Björkman 1981). Inversamente, cambios en el tamaño y forma de las células del mesófilo, pueden tener efectos considerables en algunos de estos parámetros (A^{mes}/A , v^{mes}/A , A^{mes}/V , v^{mes}/V), aún en la ausencia de un cambio en el grosor del mesófilo. En este sentido, una reducción a la mitad en el diámetro de las células hace que se doble el cociente A^{mes}/A , pero no afecta a los cocientes v^{mes}/A y v^{mes}/V (para un mismo grosor del mesófilo); mientras que un cambio en la forma de las células, desde una esférica, a otra cilíndrica (con los extremos semiesféricos), no repercute sobre el cociente A^{mes}/A , pero provoca un significativo incremento en los cocientes v^{mes}/A y v^{mes}/V (Nobel 1980, Nobel y Longstreth 1981, Björkman 1981)

De forma ideal, en la búsqueda de relaciones entre los parámetros estructurales de la hoja y los cambios funcionales, en los factores que determinan

la capacidad fotosintética, la "arquitectura tridimensional" se debería considerar siempre como un complejo conjunto de componentes, y no como unidades individuales. En la práctica, en ausencia de técnicas descriptivas apropiadas, que permitan comparar las complejas diferencias en la estructura foliar, se han de emplear parámetros simples (como los enumerados en las dos anteriores páginas), al buscar las posibles relaciones estructurales/funcionales (Jellings y Leech 1982).

Queda claro que la anatomía foliar está compuesta por una serie de variables (parámetros anatómicos), superpuestas a las diferencias intracelulares, y que todos estos factores pueden tener una influencia en la función y capacidad fotosintética de las hojas (Nobel 1980, Nobel y Longstreth 1981, Björkman 1981). Es evidente, por tanto, que para una correcta interpretación de la capacidad y tasas fotosintéticas, por unidad de área foliar, se precisen adecuadas descripciones de estas características anatómicas y celulares (Jellings y Leech 1982).

1.3.1.- INFLUENCIA DE LOS FACTORES AMBIENTALES, DURANTE EL CRECIMIENTO, SOBRE LA ANATOMIA FOLIAR Y LAS CARACTERISTICAS FOTOSINTETICAS RELACIONADAS.

El factor ambiental que más influencia tiene sobre la anatomía foliar es la intensidad luminosa durante el desarrollo de la hoja (Boardman 1977, Björkman 1981, Nobel 1980, Nobel y Longstreth 1981). Sin embargo, también la temperatura y las relaciones hídricas, durante el crecimiento, etc, pueden tener efectos importantes sobre la anatomía foliar

(Nobel 1980, Nobel y Longstreth 1981, Lichtenthaler 1980). Cualquier cambio en la temperatura, aporte hídrico, nutrición mineral, al igual que la aplicación de herbicidas, fitohormonas, reguladores del crecimiento, fungicidas, etc., origina en la hoja respuestas de crecimiento, del mismo tipo que las de plantas crecidas a altos o bajos niveles de luz (ref. Lichtenthaler 1980).

Los parámetros ambientales pueden afectar a la anatomía foliar, mediante cambios en el número de capas de células del mesófilo, o en las dimensiones y formas celulares (ref. Lichtenthaler 1980, Boardman 1977, Björkman 1981).

A través de los efectos sobre la conductancia/resistencia del mesófilo (o intracelular), estos cambios en la anatomía foliar afectan tanto a la capacidad fotosintética (Crookston y col. 1975, Boardman 1977, Patterson 1977, 1978, Nobel 1980, Nobel y Longstreth 1981, Sasahara 1982), como a la eficiencia hídrica (Nobel 1980, Nobel y Longstreth 1981).

1.3.1.1.- INTENSIDAD DE LUZ.

El aumento del grosor del mesófilo (y en % respecto a los otros tejidos de la hoja), así como del peso específico foliar (SLW), como respuesta al incremento en los niveles de irradiancia durante el desarrollo foliar, generalmente puede atribuirse, tanto a un alargamiento de las células (en sentido vertical), como a un incremento de células mesofílicas en las secciones foliares. Este alargamiento celular es el origen del pronunciado parénquima en empalizada, característico de las hojas de sol pertenecientes a plantas C₃. El principal resultado, es un aumento de la densidad

de empaquetamiento (V^{mes}/V), y por consiguiente una reducción de los espacios intercelulares (Refs. Boardman 1977, Chabot y col. 1979, Lichtenthaler 1981, Araus 1981, Björkman 1981, Ball 1982, Jurik 1982). Por otra parte, las células del mesófilo serán menores (en sentido vertical), más densamente dispuestas y también habrán menores ramificaciones vasculares en las hojas que crezcan a baja intensidad de luz (Björkman y col. 1972, Björkman 1975, Charles-Edwards y Ludwig 1975, Crookston y col. 1975, Nobel y col. 1975, Sesták y col. 1978, Patterson y col. 1978, Björkman 1981).

Según Charles-Edwards y col. (1974), estas diferencias en el grosor de las hojas estaban asociadas a cambios en el tamaño de las células del mesófilo, más que a variaciones en su número. Nobel y col. (1975) y Friend (1966), explican este aumento de grosor en la hoja por incrementos en el número y tamaño de las células del mesófilo. En este sentido, Verbelen y De Greef (1979) indican que la luz parece tener un efecto dual en el desarrollo de la hoja: activaría el período de intensa división celular, y finalizado éste, induciría la expansión celular. Friend y Pomeroy (1970), trabajando con hojas de trigo, observan que al incrementar la intensidad luminosa durante el crecimiento, las células del mesófilo fueron más gruesas; mientras que a bajas intensidades de luz, las células del mesófilo aumentaban en longitud y número, siendo por otra parte más lobuladas.

Jurik y col. (1979) y Chabot y col. (1979), encuentran que existe una correlación positiva entre la integral de radiación recibida por la planta y su peso específico foliar. Apuntan que sería la radiación total recibida durante el día, y no las intensidades máximas alcanzadas (durante el crecimiento), la que llevaría a la adquisición, por la hoja,

de las características morfológicas y anatómicas comentadas anteriormente. En este sentido, resultados obtenidos por Barden (1977) y Araus y Basseda (1980), así como las indicaciones de Friend (1966) (relacionándolo con el fotoperíodo), apoyarían esta hipótesis.

Existe poca información cuantitativa sobre el efecto de los niveles de luz, durante el crecimiento, en el diámetro de las células del mesófilo (eje menor). Björkman y col. (1972) en Atriplex triangularis, Chabot y Chabot (1977) en Fragaria vesca, Chabot y col. (1979) en Fragaria virginiana y otros autores, no encuentran diferencias claras en el diámetro de la célula. Sin embargo, Ballantine y Forde (1970) observaban una ligera diferencia en Glycine max y Wilson y Cooper (1969b) encuentran una influencia significativa en algunos genotipos de Lolium perenne. Otros autores, como Wild (1979) en Sinapsis alba y Senger y Fleischhacker (1978) en el alga unicelular Scenedesmus obliquus, observan una marcada influencia de los niveles de irradiancia, sobre el diámetro celular. En todos los casos, esta influencia es de sentido positivo.

El conjunto de todos estos resultados sugiere que un incremento en los niveles de luz, durante el crecimiento, puede tener un efecto mayor en v^{mes}/A que en A^{mes}/A , lo que coincide con los resultados de Chabot y Chabot (1977), Chabot y col. (1979). Nobel y col. (1975), Nobel (1980) y Nobel y Longstreth (1981) con hojas de Plectranthus parviflorus, indican que el incremento en A^{mes}/A fue básicamente un resultado del aumento en la longitud (en sentido vertical), de las dos capas superiores del parénquima en empalizada, con pocos cambios en el diámetro de las células. Por otra parte, en el parénquima lagunar se observó un gran aumento en el número de células (por sección

foliar), mientras que el diámetro de las mismas casi no varía. Los resultados de Nobel (1976) con Hyptis emoryi y Nobel (1977) con Adiantum decorum, apoyan lo anterior.

Nobel y col. (1975), Nobel (1976), (1977), (1980), Nobel y Longstreth (1981), Crookston y col. (1975), Charles-Edwards y Ludwig (1975), Patterson y col. (1977), (1978) encuentran una correlación (especialmente significativa en los trabajos de Nobel), entre el cociente A^{mes}/A y la tasa de fotosíntesis neta, a saturación de luz (medida en condiciones de presión parcial de CO_2 limitante, temperatura óptima y baja presión de O_2 : 0-10 mbar O_2). Como consecuencia de lo anterior, el aumento del cociente A^{mes}/A repercutiría en un incremento de la eficiencia hídrica de la hoja (Nobel 1980, Nobel y Longstreth 1981). Por otra parte, las tasas de fotosíntesis neta, a saturación luminosa, referidas a unidad de superficie de células mesofílicas (a una determinada presión parcial de CO_2 , en los espacios intercelulares, limitante), permanecía básicamente constante, sobre una amplia gama de regímenes luminosos. Este resultado, les lleva a concluir (especialmente a Nobel), que el incremento en las tasas de fotosíntesis neta, referida a área foliar, estaba causado por un aumento en la superficie celular del mesófilo, y no por cambios intrínsecos en la capacidad fotosintética de las hojas.

Sin embargo, se puede obtener una constancia similar en las tasas de fotosíntesis, si la referimos a volumen del mesófilo (Björkman 1981). Así mismo, hay que considerar la escasa correlación existente entre el cociente A^{mes}/A y las tasas fotosintéticas (por superficie de hoja), y la poca constancia entre dicho cociente y las tasas fotosintéticas, referidas a superficie de mesófilo, observada en diversas especies: Bunce y col. (1977) en *Glycine max*,

Jurik y col. (1979) en Fragaria virginiana, Öquist y col. (1981) en Betula verrucosa y especialmente Chabot y Chabot (1977) en Fragaria vesca, una especie de sombra.

Por otra parte, entre las diferentes especies existen grandes diferencias en el diámetro medio de las células del mesófilo (Björkman 1981). Por ejemplo, Adiantum decorum e Hyptis emoryi, debido a su pequeño diámetro celular medio, poseen un cociente A^{mes}/A (y posiblemente también, un cociente $A^{\text{mes}}/V^{\text{mes}}$), mucho mayor que Plectranthus parviflorus, para un mismo grosor de mesófilo (Nobel 1976, 1977). Si asumimos la hipótesis de que la difusión del CO_2 , desde los espacios intercelulares hasta el cloroplasto, (sería la componente de la conductancia del mesófilo, o intracelular, denominada por Catský y Tichá 1982, como conductancia de transporte), ejerce la mayor limitación sobre la fotosíntesis, un menor tamaño celular podría implicar un aumento en las tasas de fotosíntesis. Las observaciones de Wilson y Cooper (1967), (1970), sobre la existencia, para diversos genotipos de Lolium perenne, de una correlación negativa, entre las tasas de fotosíntesis (a saturación de luz), y el tamaño de las células del mesófilo, apoyarían esta su posición.

Sin embargo, no existen pruebas concluyentes que indiquen que el cociente A^{mes}/A sea el factor principal, que explique las diferencias en las tasas fotosintéticas de especies distintas; o que el transporte difusivo del CO_2 , desde los espacios intercelulares a los cloroplastos, imponga la mayor limitación a la fotosíntesis, en plantas C_3 crecidas en sus condiciones luminosas naturales (Björkman 1981). Incluso, recientes resultados sobre la discriminación en la absorción de los isótopos del carbono (comentados en la

primera parte de la introducción), cuestionarían la importancia relativa de la resistencia a la difusión del CO_2 en la fase líquida (O'Leary 1981, Farquhar y col. 1982). Parece pues, que el aumento en las tasas fotosintéticas, sólo puede tener lugar si los incrementos en v^{mes}/A y especialmente en A^{mes}/A están acompañados por aumentos (por superficie de hoja), en las cantidades de RuBP carboxilasa, componentes de la cadena de transporte electrónico, así como otros constituyentes que determinan las tasas fotosintéticas al nivel cloroplástico (Björkman 1981).

Del mismo modo, parece que en plantas que poseen un gran potencial de adaptación a elevados niveles luminosos, la cantidad de los componentes mencionados en el párrafo anterior, referida a superficie o volumen del mesófilo, permanece más o menos constante, bajo una amplia gama de regímenes luminosos (Boardman 1977, Björkman 1981). El mecanismo alternativo de respuesta, sería un incremento en la concentración de estos componentes, en los cloroplastos o células, al aumentar el nivel de luz durante el crecimiento. Sin embargo, es probable que exista, de forma intrínseca, un límite superior, por encima del cual no pueda aumentar la concentración de dichos componentes: por ejemplo, hay evidencia de que la concentración de RuBP carboxilasa, en los cloroplastos, alcanza el límite de solubilidad de esta proteína (Björkman 1981). También es posible que la distribución espacial de los aceptores enzimáticos de CO_2 , sea un aspecto importante en la captura eficiente del CO_2 , especialmente a presiones limitantes del mismo. En este sentido, para una utilización eficiente de las bajas concentraciones intercelulares de CO_2 , es necesaria una cierta relación entre el número de lugares de carboxilación, el área cloroplástica y la superficie de la pared celular (Rakhi 1971, Björkman 1981) (ver apartado 1.1.2.1.3.). Un aumento

concomitante, de los niveles de los componentes del sistema fotosintético y de la superficie de las paredes celulares del mesófilo, puede servir para mantener un balance adecuado entre ambos tipos de factores (Björkman 1981).

1.3.1.2.-TEMPERATURA

Chabot y Chabot (1977), trabajando con Fragaria vesca, encuentra que las hojas gruesas, de bajas densidades de mesófilo, se convierten en más finas y densas al aumentar la temperatura de crecimiento (de 10/20 a 30/20), y además se incrementan las tasas fotosintéticas, a saturación de luz. Al elevar aun más la temperatura (30/20 a 40/30), las hojas serán más gruesas y densas (sea por una respuesta específica a las altas temperaturas, o por el estrés de las altas transpiraciones), pero hay un aumento en los daños celulares y anomalías en las vías metabólicas. La evolución del peso específico foliar (SLW) fue opuesta a la del grosor, mientras que las correlaciones entre diversas variables anatómicas y la fotosíntesis fueron insignificantes (Chabot y Chabot 1977).

De todas maneras, no hay que confundir los efectos de las temperaturas extremas, con los producidos por temperaturas fisiológicamente más normales. En el rango de temperaturas moderadas, otros autores también han indicado que con el aumento de las temperaturas descende el grosor de las hojas: Charles-Edwards y col. (1974), Pieters (1974), Peet (1975, Ref. Chabot y Chabot 1977), Kemp y Cunningham (1981). Por otra parte, diversos autores observan, junto con el grosor, un descenso en el SLW al aumentar la temperatura de crecimiento (Woledge y Jewiss 1969, Van Volkenburg y Davies 1977, Nelson y col. 1978); resultado opuesto

al encontrado por Chabot y Chabot (1977).

La falta de sensibilidad y magnitud en la respuesta anatómica, así como las bajas correlaciones entre anatomía y fotosíntesis, al variar la temperatura (en comparación al efecto de la luz), sugieren que la mayor influencia de la temperatura de crecimiento, sobre la fotosíntesis, es de tipo bioquímico (Björkman y col. 1978, 1980, Chabot y Chabot 1977, Berry y Björkman 1980, Dornhoff y Shibles 1976): como cambios en la concentración enzimática (Sawada y col. 1974), destrucción de membranas y pigmentos por altas (Berry y col. 1975) o bajas temperaturas (Kimball y Salisbury 1974), cambios en el tamaño del sustrato (Chabot y Chabot 1977).

Sin embargo, Nobel (1980) y Nobel y Longstreth (1981), indican que por efecto de una elevación de la temperatura durante el crecimiento (10 a 40°C), se producía un incremento del 40% en el cociente A^{mes}/A de Plectranthus parviflorus y Fragaria vesca. Se debe a la disminución en el tamaño de las células, aunque también desciende el grosor de la hoja. Además, según Charles-Edwards y col. (1974), Nobel (1980) y Nobel y Longstreth (1981), la conductancia celular aumenta concomitantemente con la elevación de la temperatura durante el crecimiento, hasta aproximadamente los 25-30°C (en C_3), disminuyendo a continuación. Este resultado "bilateral", hace concluir a Nobel y Longstreth (1981) que la temperatura durante el crecimiento influye a la vez, sobre los componentes anatómicos (A^{mes}/A , grosor mesófilo) y los subcelulares (conductancia celular: bioquímicos, etc.) de la conductancia del mesófilo (o intracelular).

Por otra parte, Nobel (1980), indica que el incremento en la eficiencia hídrica, en hojas de Plectranthus parviflorus, al aumentar la temperatura de crecimien-

to podría estar ligado, en parte, al aumento en el cociente A^{mes}/A .

1.3.1.3.-ESTRES HIDRICO

Al descender el potencial hídrico del suelo (-0.2 a -12 bars), el cociente A^{mes}/A de Plectranthus parviflorus aumentaba alrededor del 40%, y el de Encelia farinosa, cerca del 50%, a causa de la formación de más capas de células mesofílicas menores; mientras que para Gossypium hirsutum, este cociente no variaba prácticamente, aunque la hoja fue un 24% más fina en las condiciones de mayor sequedad (Nobel 1980, Nobel y Longstreth 1981). En Pisum sativum, bajo condiciones de estrés hídrico, también se formaban hojas más finas, con células menores (Manning y col. 1977), aunque las hojas más gruesas correspondían a condiciones hídricas intermedias.

Se puede resumir, que como respuesta al estrés hídrico, se produce una reducción en el tamaño de las células, aunque los cambios en el cociente A^{mes}/A , dependen aparentemente de las especies (Nobel 1980, Nobel y Longstreth 1981). La conductancia celular disminuye tanto en Plectrathus parviflorus como en Gossypium hirsutum al aumentar el estrés hídrico.

Por tanto, el estrés hídrico, al igual que la temperatura, parece tener una influencia múltiple sobre los componentes anatómicos y subcelulares de la conductancia del mesófilo (o intracelular) (Nobel y Longstreth 1981).

1.3.1.4.-SALINIDAD DEL MEDIO

Cuando se incrementaba la salinidad en Gossypium hirsutum, el cociente A^{mes}/A aumentaba un 50%, a causa de un alargamiento en vertical de las células del parénquima en empalizada (Nobel 1980, Nobel y Longstreth 1981). Por contra, en Atriplex patula ssp. hastata, se provoca un incremento en todas las dimensiones de la célula, y esto se traducía en pocos cambios en el cociente A^{mes}/A , aunque las hojas fueran más gruesas por efecto del aumento en la salinidad (Longstreth y Nobel 1979, Nobel y Longstreth 1981). Por otra parte, Kemp y Cunningham (1981), trabajando con Distichlis spicata (planta C_4), observaron que al aumentar la salinidad se formaban hojas más gruesas, aunque no variaba significativamente el cociente citado anteriormente.

Nobel (1981) y Nobel y Longstreth (1981), concluyen, que las variaciones en salinidad pueden afectar, tanto al cociente A^{mes}/A , como a la conductancia celular, según las especies. Por tanto, la salinidad influye (como la temperatura y el estrés hídrico), sobre los componentes anatómicos y subcelulares de la conductancia del mesófilo (o intracelular).

1.3.2.- VARIACIONES DE LA ANATOMIA FOLIAR EN FUNCION DE SU NIVEL DE INSERCIÓN.

Las hojas superiores de una planta, muestran, por lo general, en relación a las hojas de inserción inferiores, las siguientes características (Tichá 1982):

En la epidermis del haz y del envés, no sólo una superior densidad y un menor tamaño estomático, sino también tricomas y células epidérmicas menores y - además una mayor densidad de tricomas y capa de cera más desarrollada.

En el mesófilo, una menor distancia entre vasos, paredes celulares más gruesas, células del mesófilo menores y en mayor número respecto a superficie foliar, más parénquima típicamente en empalizada así como menos parénquima esponjoso, menores espacios intercelulares y el tejido de función mecánica (esclerenquima) más desarrollado

Todo lo anterior, lleva a la conclusión de que las hojas superiores muestran una estructura más xeromorfa que las inferiores. Zalenskii (1904, Ref. Tichá 1982), sugería que esta tendencia xeromórfica se podría deber al hecho, de que las hojas de diferente nivel de inserción, se desarrollaban bajo distintas condiciones ambientales (luz, temperatura, aportes hídricos y de nutrientes), a partir de distintos primordios foliares. Destacaba, sobre todo, el efecto del aporte hídrico, presumiblemente deficiente, sobre las hojas dispuestas en las extremidades, como causante de las características xeromórficas. Esto, se puede resumir en la denominada "ley de Zalenski" (Tichá 1966): la estructura anatómica de cada una de las hojas del mismo tallo, está en función de su distancia al sistema radicular (Ref. Tichá 1982, Sasahara 1982).

El alargamiento (en sentido vertical), en el tamaño de las células del mesófilo, al descender en el número de inserción foliar, podría tener como función el incrementar o mantener el cociente A_{mes}/A , .Esto se traduciría en una constancia de las tasas fotosintéticas, a saturación de luz, para las sucesivas hojas (Sasahara 1982).

1.3.3.- EVOLUCION DE LA CONDUCTANCIA/RESISTENCIA DEL MESOFILO (INTRACELULAR) Y SUS COMPONENTES, DURANTE LA ONTOGENIA DE LA HOJA.

La conductancia/resistencia del mesófilo (intracelular o residual: ver apartado 1.1.2.) a la difusión del CO_2 , así como sus componentes (conductancias/resistencias de transporte, carboxilación y excitación) (Catský y Tchá 1982), evolucionan durante la ontogenia de la hoja en relación a cambios anatómicos y ultraestructurales.

1.3.3.1. CAMBIOS ONTOGENICOS EN LA CONDUCTANCIA TOTAL DEL MESOFILO (INTRACELULAR).

Normalmente, la mayoría de trabajos sobre el tema encuentran una evolución paralela de la conductancia estomática, del mesófilo, y las tasas de fotosíntesis neta, en función de la edad de la hoja (Ludlow y Wilson 1971, Woodward y Rawson 1976, O'Toole y col. 1977), con el resultado de que la concentración de CO_2 , en los espacios intercelulares permanece constante durante gran parte de la ontogenia foliar (Davis y McCree 1978, Goudriaan y van Laar 1978, Constable y Rawson 1980, Farquhar y Sharkey 1982, Evans 1983). En trigo, la evolución conjunta de estos parámetros se ha estudiado por autores como: Osman y Milthorpe (1971), Rawson y col. (1976), Shmatko y col. (1979), Evans (1983).

Sin embargo, también se han encontrado los máximos de conductancia del mesófilo, antes (Constable y Rawson 1980), o después del máximo en conductancia estomática (Catský y col. 1976). Generalmente, todos los autores coinciden en que hay un paralelismo entre la conductancia del mesófilo y la fotosíntesis, durante toda la ontogenia foliar.

El descenso de la fotosíntesis neta, con la edad de la hoja, es debido, por tanto, a una disminución en las conductancias estomáticas y del mesófilo.

Pero, la correlación entre la conductancia del mesófilo y la fotosíntesis neta, normalmente es superior a la establecida entre la conductancia estomática y la fotosíntesis (Aslam y col. 1977). La correlación superior, establecida con la conductancia del mesófilo, sugiere que los cambios en esta conductancia son más importantes que los de la conductancia estomática, a la hora de determinar la evolución de la fotosíntesis neta con la edad (Aslam y col. 1977, Catský y Tichá 1982, Aslam 1978; este último en trigo). Aslam y col. (1977), apoya sus conclusiones en el hecho de que las variaciones en la resistencia del mesófilo, son cuantitativamente más importantes que las de la resistencia estomática. También Woledge (1972), trabajando con Lolium, encuentra que tanto la conductancia del mesófilo, como la estomática, descienden al envejecer la hoja; pero la primera disminuye más acusadamente. Samsuddin e Impens (1979), encuentran similares cambios ontogénicos en Hevea.

Normalmente, los cambios ontogénicos o de inserción (en hojas de diferentes edades a lo largo de los niveles de inserción foliar), en la conductancia del mesófilo sólo son ligeramente modificados por los factores ambientales e internos, durante el crecimiento o las mediciones (Catský y Tichá 1982). Entre estos factores tenemos: potencial hídrico

(Adams y col. 1977), vernalización (Woledge 1979), ácido giberélico (Little y Loach 1975), irradiancia (Woledge 1972, Rawson y Woodward 1976, Catský y Tichá 1980), altos niveles de nutrientes (Rawson y Woodward 1976), estrés hídrico (Moorby y col. 1975), polución (Srivastava y col. 1975). Tampoco se han observado diferencias considerables en los cambios ontogénicos de la conductancia del mesófilo, entre variedades de una misma especie (Aslam y col. 1977, Catský y Tichá 1982).

Generalmente, los factores de estrés, como por ej. la sequía aceleran la senescencia foliar, y por tanto el descenso en conductancia del mesófilo (Hauscom III y Ting 1977). Una respuesta similar puede inducirse por el desarrollo del fruto (Woodward y Rawson 1976), o por el nivel de asimilados de la hoja (Lazan y col. 1983, en hoja bandera de trigo). Fraser y Bidwell (1974) indica, en base a un trabajo con Phaseolus, que hay un comportamiento intrínseco del intercambio gaseoso de cada hoja, aunque éste pueda modificarse por hechos que tienen lugar, durante el desarrollo, en otras partes de la planta, como la emergencia de la hoja subsecuente o la floración.

Resultados similares se han encontrado en plantas con hojas de larga duración, como Abies (Little y Loach 1975). Sin embargo, Syvertsen y Cunningham (1977) indican que inicialmente, la conductancia del mesófilo de Larrea, una vez que estuvo la hoja totalmente expandida, no se modificó con la edad de la misma. Por otra parte, Bauer y Bauer (1980), encuentran conductancias del mesófilo menores en hojas juveniles de Hedera, en comparación con las adultas. Dunn (1975), obtiene resultados similares en plantas esclerófitas.

Las diferencias en la conductancia del mesófilo, entre sucesivas hojas de la misma planta (consideradas simultáneamente), no reflejan cuantitativamente la evolución de dicho parámetro debida a la edad. Los cambios en la conductancia del mesófilo (y otros parámetros fotosintéticos), durante la ontogenia de la hoja, o con el número de inserción foliar, son básicamente similares (Ludlow y Wilson 1971, Catský y Tichá 1982), y reflejan los cambios en la fotosíntesis neta, frecuentemente mencionados en la literatura (Refs. Sesták y Catský 1967, Catský y Tichá 1982). Una tendencia similar puede también observarse en la evolución de la conductancia del mesófilo en el transcurso del ciclo biológico de la planta (Giurgevich y Dunn 1978, 1979, Linder y Troeng 1980). Sin embargo, puede ser modificada por cambios en el ambiente de la planta y de la comunidad vegetal: sombra (Woledge 1977, 1978), temperatura (Moore y col. 1973), radiación (Taylor y Pearcy 1976), estrés hídrico (Shmatko y col. 1979, en trigo), o variaciones en los factores endógenos de la planta, como la floración y fructificación (Frank y Barker 1976, Woodward y Rawson 1976, Hall y Brady 1977).

Respecto a las plantas C_4 , la tendencia general en los cambios ontogénicos de la conductancia del mesófilo, es similar a la descrita en las C_3 (Slatyer, 1970, Ludlow y Wilson 1971, Constable y Rawson 1980). Así mismo, las diferencias relativas en la conductancia del mesófilo, entre hojas con distintos niveles de inserción (medidas simultáneamente), son similares a las encontradas para plantas C_3 (Slatyer 1970, Catský y Tichá 1982).

1.3.3.2. EVOLUCION ONTOGENICA DE LOS COMPONENTES DE LA CONDUCTANCIA/RESISTENCIA DEL MESOFILO (INTRACELULAR).

La información disponible sobre los cambios ontogénicos en los componentes individuales de la conductancia del mesófilo es bastante escasa (Catský y Tichá). Usando el modelo de Chartier (Chartier y col. 1970), Catský y Tichá (1980), que indica que el componente de transporte era la porción principal (60-75%) de la resistencia global del mesófilo, durante toda la ontogenia de hojas primarias de Phaseolus vulgaris. A pesar de las grandes diferencias, el incremento en la conductancia de la carboxilación, después de finalizar la expansión foliar, estaba de acuerdo con un aumento en las tasas de la reacción de Hill, y de la fotofosforilación no cíclica (Zima y col. 1981). Diferencias similares en la conductancia de transporte y la de carboxilación se pueden esperar de hojas con distintos niveles de inserción (medidas simultáneamente) (Catský y Tichá 1970). De todas formas, los resultados de Catský y Tichá (1980), pueden ser criticados en base a los trabajos sobre discriminación de isótopos de carbono (O'Leary 1981, Farquhar y col. 1982, Farquhar y Sharkey 1982) (ver apartado 1.1.2.1.1.).

Las conductancias de transporte y carboxilación pueden ser modificadas por los factores ambientales. En este sentido, Prioul (1971), trabajando con Lolium multiflorum, indica que tanto la conductancia de transporte, como la de carboxilación, descienden (independientemente de la posición de la hoja), en función de una disminución de la irradiancia durante el crecimiento (ver apartado 1.3.1.1.).

Utilizando la fórmula de Rakhi (1971), Tichá y Catský (1977) tenemos, para Phaseolus, un corto descenso en el componente de transporte de la conductancia del me

sófilo (calculado a partir de la anatomía foliar), desde el inicio del desarrollo de la hoja, seguido por un ligero incremento. Si comparamos este componente de transporte con la conductancia del mesófilo, determinada mediante IRGA, estos autores concluyen que la estructura de la hoja puede limitar el transporte de CO_2 en las hojas maduras, cercanas a su capacidad fotosintética máxima.

Los cambios ontogénicos en la fotosíntesis neta, principalmente el descenso de la misma en relación al envejecimiento de la hoja, se asocian frecuentemente a una reducción en la actividad de las enzimas relacionadas con la fotosíntesis, como por ejemplo RuBP carboxilasa (Moorby y col. 1975, Fleck y Di Marco 1982), anhidrasa carbónica (Moorby y col. 1975). En plantas C_3 , se ha sugerido que la actividad de la anhidrasa carbónica se asocia con el componente de transporte de la conductancia del mesófilo, mientras que la de la RuBP carboxilasa lo está con el componente de carboxilación (Catský y Tichá 1982). La relación entre estos parámetros, fue señalada inicialmente, para Lolium multiflorum, adaptado a diferentes regímenes luminosos, por Reyss y Prioul (1975). Posteriormente, se han publicado resultados más completos, como los de Tsel'niker y col. (1980) y la revisión de Catský y Tichá (1982). Estos últimos, señalan el peligro de comparar parámetros medidos "in vivo" (fotosíntesis neta y otros parámetros relacionados), con las actividades enzimáticas, medidas "in vitro".

La información sobre los cambios ontogénicos, en la actividad de la anhidrasa carbónica, es muy escasa (Catský y Tichá 1982). Chang (1975) encuentra que la actividad de la anhidrasa carbónica, en hojas jóvenes de algodón, fue similar a cualquier nivel de CO_2 , mientras que en hojas adultas y senescentes, la actividad

de la anhidrasa carbónica, es dependiente de la concentración de CO₂. A concentraciones de CO₂ atmosféricas, durante la ontogenia de la hoja, la actividad de la anhidrasa carbónica aumentaba hasta un máximo (probablemente posterior al máximo de fotosíntesis neta), descendiendo a continuación (Chang 1975). La evolución, a lo largo del gradiente de inserción foliar, mostraba dos máximos. Al elevar la concentración de CO₂ hasta 1000 cm³/m⁻³, los cambios ontogénicos y de inserción fueron menores (Chang 1975).

No existe evidencia directa de cambios ontogénicos en la conductancia de carboxilación (Castký y Tichá 1982), aunque si que existen pruebas indirectas, de dos aspectos relacionados (Ludlow y Wilson 1971).

En primer lugar, los cambios ontogénicos en la capacidad enzimática global para la fotosíntesis, sobre todo en RuBP carboxilasa, (Ref. Zima y Sesták (1979), pueden indicar cambios similares en la conductancia de carboxilación. En segundo lugar, durante la senescencia de las hojas, la fotosíntesis neta está correlacionada con el contenido en RNA y proteína, con el metabolismo proteico y con el contenido en nitrógeno proteico. En este sentido, Evans (1983), trabajando en hojas de bandera de trigo, encuentra únicamente correlación, entre la fotosíntesis y el contenido en nitrógeno. Estas correlaciones refuerzan la hipótesis sobre la importancia de la conductancia de carboxilación, dentro de la conductancia del mesófilo. Además, las citoquininas (que previenen la degradación proteica), también retardan el declive de la fotosíntesis, durante la senescencia (Ref. Fleck 1983).

Con algunas limitaciones, los datos de la bibliografía sobre cambios ontogénicos en la eficiencia fotoquímica, pueden ser interpretados en términos de

conductancia de excitación (Ludlow y Wilson 1971, Jarvis 1971, Catský y Tichá 1982). El valor de la eficiencia fotoquímica aumenta con la edad, hasta un máximo, que tiene lugar en momentos diferentes según las especies: diversas pratenses C_3 y C_4 (Ludlow y Wilson 1971), habas (Tsuji y col. 1978a, 1979, Catský y Tichá 1980), manzano (Watson y Landsberg 1979). La eficiencia fotoquímica, normalmente es superior en plantas C_4 respecto a las C_3 (Ludlow y Wilson 1971). Una tendencia similar, en los cambios ontogénicos de la eficiencia fotoquímica fue observada por Yamaguchi y Friend (1979), en plantas de café creciendo al 100% y al 25% de la luz solar, en invernadero. Pero las plantas crecidas en cámara de cultivo, presentaban superior eficiencia fotoquímica, tanto en hojas jóvenes como senescentes. Los cambios en la eficiencia fotoquímica de hojas pertenecientes a diferentes niveles de inserción (medidas simultáneamente), normalmente son similares a los observados durante la ontogenia de la hoja (Catský y Tichá 1982). Sin embargo, Ludlow y Wilson (1971), en varias de sus especies estudiadas, no encuentran diferencias en la eficiencia fotoquímica.

1.3.3.3. CAMBIOS ONTOGENICOS EN LA ANATOMIA Y ULTRAESTRUCTURA FOLIAR EN RELACIÓN A LA CONDUCTANCIA/RESISTENCIA DEL MESOFILO (INTRACELULAR).

En la literatura actual disponible, no existe ningún tipo de información respecto a los cambios ontogénicos, sobre la conductancia de las distintas estructuras individuales, que atraviesa el CO_2 en su recorrido (Catský y Tichá 1982). Sin embargo, un análisis de diversos parámetros fisico-químicos y citológicos, puede proporcionarnos cierta información en este

sentido, obteniéndose conductancias más bien inferiores a las consideradas reales (según Catský y Tichá 1982, en la realidad serían varias veces superiores). Se ha visto (Nobel 1974), que las principales estructuras que limitan el flujo de CO_2 , desde los espacios intercelulares, a los lugares de carboxilación en el cloroplasto, son el plasmalema y las membranas cloroplásticas. Sus conductancias, calculadas a partir de la 1ª ley de Fick, pueden valer, para ambas, alrededor de $3\text{-}4\text{mms}^{-1}$ o menos (Nobel 1974, Catský y Tichá 1981). Las restantes estructuras, tales como la pared celular y especialmente el citoplasma y el estroma de los cloroplastos pueden tener una conductancia mucho mayor, entre 10 y 100mms^{-1} . (ver figura adjunta)

Por otra parte, hay ciertas evidencias, a partir de estudios citológicos y anatómicos, de que la superficie foliar interna (A^{mes}), puede variar con la edad de la hoja (Turrell 1965, Ref. Catský y Tichá 1982) (Tichá y Catsky 1977). El cociente A^{mes}/A , aumenta muy rápidamente durante la ontogenia de la hoja, hasta justo después de la expansión foliar, y a partir de entonces más lentamente (Tichá y Catský 1977). Este aumento en A^{mes}/A , se traducía en un incremento en la componente de transporte, de la conductancia del mesófilo (calculada según la fórmula de Rakhi 1971).

Las paredes de las células del mesófilo pueden engrosarse durante la ontogenia de la hoja, lo que haría disminuir la conductancia a su través (Catský y Tichá 1982). Por contra, la vacuolización de las células del mesófilo, puede disminuir la distancia de los cloroplastos a la pared celular, y por tanto, aumentar la conductancia del citoplasma (Catský y Tichá 1982). Una respuesta similar puede ser inducida por la formación de almidón (central) en los cloroplastos (Catský y Tichá 1982).

El número de cloroplastos por célula, tanto en el parénquima en empalizada como en el lagunar, aumenta de 2 a 10 veces durante la ontogenia foliar (Possingham y Saurer 1969, Whatley 1980, Wild y Wolf 1980). Así mismo, el diámetro medio de los cloroplastos aumenta, durante el desarrollo de la hoja, 3-4 veces (Wieckowski 1967, Ref. Catský y Tichá 1982, Whatley 1980). El incremento en el número y tamaño de los cloroplastos puede contribuir a una mejor cobertura, por los mismos, de la superficie interna de la hoja, y por lo tanto, a un incremento en la componente de transporte (según fórmula de Rakhi 1971] de la conductancia del mesófilo (Catský y Tichá 1982).

Otro factor, que varía en función de la edad de la hoja, puede ser el achatamiento de los cloroplastos iluminados: Miller y Nobel (1972) han demostrado que la capacidad de los cloroplastos iluminados para achatarse, aumenta durante el desarrollo de la hoja, paralelamente al número de tilacoides estromáticos por cloroplasto. El movimiento de los cloroplastos y los cambios en la viscosidad del citoplasma, así como las corrientes dentro del mismo, pueden ciertamente contribuir al suministro de CO₂ a los centros de carboxilación; aunque no existe información sobre sus cambios ontogénicos (Catský y Tichá 1982).

Durante la senescencia de la hoja, la disminución en el tamaño de los cloroplastos, degradándose el sistema de tilacoides estromáticos (lamellas); así como el aumento de los espacios intercelulares (Jacob y col. 1973), puede traducirse en un aumento global de la conductancia de transporte. Esto estaría de acuerdo con los resultados de Tichá y Catský (1977) (utilizando la fórmula de Rakhi 1971), para el conjunto del parénquima en empalizada. Sin embargo, el incremento en la conductan

cia de transporte, puede ser enmascarado por un descenso más acusado en las conductancias químicas (carboxylación, excitación (Tichá y Catský 1977, Catský y Tichá 1982)).

2.- MATERIAL Y METODOS

2.1.- MEDIDAS DE INTERCAMBIO GASEOSO.

Las mediciones de fotosíntesis neta, a saturación de luz, se realizaron sobre hojas sin escindir, mediante un sistema de intercambio gaseoso abierto provisto de IRGA (Sestak y col. 1971, Araus 1981:Tesina). La diferencia de concentración entre el aire de referencia y el de la muestra, después de pasar por la cámara fotosintética, no excedió los 30-40 ppm. La saturación luminosa se obtuvo mediante radiación solar directa (superior siempre a los 1300-1400 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$).

2.1.1. CALCULO DEL INTERCAMBIO DE CO₂.

En un sistema abierto, la tasa de intercambio de CO₂ puede venir dada por la siguiente expresión (Gaastra 1959):

$$F = J \cdot \frac{C}{A}$$

Dónde:

F..es la tasa de intercambio (o densidad de flujo)
($\text{L}^3\cdot\text{L}^{-2}\cdot\text{T}^{-1}$).

J..es el flujo de aire a través de la cámara fotosintética ($\text{L}^3\cdot\text{T}^{-1}$).

A..es el área foliar (normalmente una sola cara) (L^2)

C..es la diferencia en la concentración de CO₂ antes de entrar y al salir de la cámara fotosintética ($\text{L}^3\cdot\text{L}^{-3}$).

Normalmente es preferible expresar el intercambio de CO₂ en términos de flujo de masa o de fracción molar de CO₂. En este caso, es necesario conocer la temperatura y la presión atmosférica durante la determinación. Las unidades en que se expresa F son arbitrarias. Las que se han empleado en este trabajo son: $\text{mgCO}_2\cdot\text{dm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ y $\mu\text{molCO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (ésta última más empleada hoy día).

Considerando el intercambio de CO₂ en términos de flujo de masas y teniendo en cuenta los factores de conversión,

la fórmula anterior queda del siguiente modo (Sestak y col. 1971, Keys y col. 1977):

$$F = \frac{C(\text{ppm}) \cdot J(\text{m}^3\text{h}^{-1}) \cdot 44 \cdot 273^{\circ}\text{K} \cdot P(\text{mb})}{A(\text{dm}^2) \cdot 22,414 \cdot (T^{\circ}\text{C} + 273^{\circ}\text{K}) \cdot 1013(\text{mb})}$$

Dónde:

T..es la temperatura en grados Kelvin bajo la cual fue calibrado el medidor de flujo y a la cual se realiza la medida (si ambas fueran muy distintas se introduciría una corrección).

P..es la presión barométrica (mb) durante la determinación. El medidor de flujo tiene que estar calibrado a 1013 mb = 760 torr. Por comodidad normalmente en las mediciones se considera la presión barométrica como 1013 mb.

La transformación de $\text{mgCO}_2 \cdot \text{dm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ en $\mu\text{molCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ es inmediata:

$$0.6313 = \frac{1 \text{ mgCO}_2}{\text{dm}^2 \cdot \text{h}} \times \frac{1000 \text{ ugCO}_2}{1 \text{ mgCO}_2} \times \frac{1 \mu\text{molCO}_2}{44 \text{ ugCO}_2} \times \frac{100 \text{ dm}^2}{1 \text{ m}^2} \times \frac{1 \text{ h}}{3600 \text{ s}}$$

1.1.2. CARACTERISTICAS TECNICAS DE LA CAMARA DE INTERCAMBIO GASEOSO.

Las explicaciones básicas sobre las características técnicas del sistema de intercambio gaseoso están desarrolladas en mi TESINA (Araus 1981).

El único elemento nuevo introducido en el sistema fue la cámara de intercambio gaseoso para hojas (especialmente de gramináceas) sin escindir. La cámara fue diseñada por el Doctor D. Arturo Caballero y Ricardo Simonneau (1981) y modificada posteriormente por Luis Tapia y José Luis Araus en base a los requerimientos del protocolo experimental establecido. Se adjunta una planta y sección a escala 1:1.

Esta cámara pertenece al tipo de las que presentan el acondicionamiento de aire y la ventilación incorporada. Son las utilizadas normalmente en condiciones de campo y circuitos abier



tos (Sestak 1971). Está construida con metacrilato de 1 cm. de espesor (80% de transmitancia), con una base rectangular (recipiente) de 116 mm x 350 mm por 63 mm de altura.

En la parte inferior se sitúa el serpentín de cobre, protegido de la radiación solar directa por una plancha de plástico negro. En una de las paredes laterales está la toma de aire, el cual ha de atravesar el elemento intercambiador de calor.

El ventilador está dispuesto de forma que aproveche al máximo la superficie intercambiadora del serpentín, además de crear dentro de la cámara una corriente de aire que garantice la homogeneización del mismo y disminuya al máximo la resistencia de la capa adherida de aire (r_a).

En la parte superior de la cámara se dispone la hoja: sobre fondo negro para realizar curvas de saturación de luz, o sobre aluminio reflectante para trabajar a saturación de luz (este último fue nuestro caso). La toma de aire para el IRGA se sitúa en un lateral de la parte superior.

Los termopares de temperatura seca y húmeda se situaron respectivamente debajo de la hoja y en una pequeña concavidad situada en la base de la cámara, protegido de la radiación solar directa.

2.1.3. PUNTOS DE COMPENSACION DE CO₂.

Los puntos de compensación del CO₂, al 21% de O₂ se midieron a $22 \pm 1^\circ\text{C}$ con un sistema de intercambio gaseoso cerrado descrito por Fleck (1983: TESIS).

2.1.4. TRANSPIRACION, CONDUCTANCIA/RESISTENCIA ESTOMATICA Y DEL MESOFILO.

La resistencia estomática ($s \cdot \text{cm}^{-1}$) a la difusión del vapor de agua y la transpiración ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) se midieron mediante un autoporómetro de la casa LI-COR (modelo LI-

1600), a la entrada y salida de la cámara de intercambio gaseoso. La humedad relativa durante las mediciones se fijó en el 54%.

La cubeta del autoporómetro posee un ventilador que reduce la resistencia de la capa de aire adherida hasta aproximadamente $0.15 \text{ s}\cdot\text{cm}^{-1}$ (r_a). Esta resistencia es descontada por el aparato al calcular la resistencia estomática.

La resistencia del mesófilo a la transferencia del CO_2 se calculó según el método de Jarvis (1971), Wueuscher y Kozlowski (1971) y otros (Ref. Longstreth y Nobel 1979). La (CO_2) intercelular se calcula como:

$$(\text{CO}_2) \text{ intercelular} = (\text{CO}_2) \text{ atmosférico} - P \cdot r_s$$

Dónde:

(CO_2) atmosférico...es la concentración del CO_2 a la salida de la cámara de intercambio gaseoso ($\text{mg}\cdot\text{cm}^{-3}$).

P.....es la absorción de CO_2 o "fotosíntesis neta" ($\text{mg}\text{CO}_2\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$).

r_ses la resistencia estomática ($\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$).

Si asumimos que la concentración de CO_2 dentro de los cloroplastos (en los lugares de carboxilación) es igual al punto de compensación nos queda:

$$r_m = \frac{(\text{CO}_2) \text{ intercelular} - \Gamma}{P}$$

Dónde:

r_mes la resistencia del mesófilo (o intracelular) ($\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$).

Γes el punto de compensación ($\text{mg}\cdot\text{cm}^{-3}$).

2.2.- ESTUDIO MORFOLOGICO Y ANATOMICO.

La superficie de la lámina se calculó a partir de fotocopias por el método de la pesada. La superficie de la vaina, tallo envuelto por la misma y estipe se realizó a partir del cálculo de su diámetro medio (media de la base, medio y punta) y de su longitud, asimilándolos a cilindros. En las mediciones de los diámetros se utilizó un "pie de rey".

Para las mediciones de los parámetros anatómicos se fijó una porción de 1 cm de largo, de la zona media de la lámina. Se fijó en hidrato de cloral y FAA (el segundo como testigo del primero). El hidrato de cloral, al transparentar las estructuras, permite una mejor observación general de los tejidos. Las muestras transparentadas se observaron y fotografiaron en el microscopio óptico (30x). A partir de las fotografías se calcularon las densidades estomáticas y de tricomas del haz y del envés.

A continuación se realizaron cortes transversales con un microtomo de "Ranvier". Las medidas de los parámetros anatómicos del mesófilo (volumen, dimensiones y número de secciones transversales celulares) se realizaron sobre fotografías del 2º-3º vaso a partir de la vena central (355 x de ampliación total). Las dimensiones de las secciones transversales celulares (perímetro y superficie) se calcularon asimilándolas a elipses. De cada hoja se realizaron 2 fotografías (ambos lados a partir de la vena central). En cada fotografía se midieron las dimensiones (al azar) de 20 secciones transversales celulares. Para cada hoja el valor de un parámetro fue la media de los resultados de las dos fotografías.

El cociente A^{mes}/A se estimó mediante el producto del perímetro medio de una sección transversal celular (en mm.), por el número de secciones transversales celulares/mm. de corte transversal. El volumen del mesófilo ($cm^3 \cdot dm^{-2}$) mediante el producto del grosor del mesófilo (en mm.) por 10.

Las observaciones mediante el microscopio electrónico de transmisión fueron realizadas a partir de muestras incluidas en "Spurr". La metodología que he empleado es la utilizada actualmente por otros autores (Parker y Ford 1982) para la observación de láminas de trigo. En la preparación de muestras para el microscopio electrónico de transmisión se obtuvieron cortes semifinos (2-5 μ de grosor) que se tiñeron con azul de metileno. Se realizaron así mismo observaciones con el microscopio electrónico de barrido ("Scanning"). La metodología empleada para realizar las preparaciones fue desarrollada por los Doctores Ramón Fontarnau y Roberto Bargalló (Técnica "go-go") del Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Barcelona. Con su consejo introduje las modificaciones necesarias hasta la consecución de unos resultados adecuados con el material vegetal utilizado:

- Fijación: En gluteraldehído en tampón fosfato sódico durante 3 horas, sometida la muestra a un ligero vacío (mediante trompa de agua).
- Lavado: Por tres veces sucesivas en tampón fosfato sódico 0.2 M (pH=7.4). Tiempo mínimo para cada lavado 10 minutos.
- Postfijación: En OsO₄ al 2% en tampón fosfato sódico 0.2 M (pH=7.4) durante 3 horas.
- Lavado: Por dos veces sucesivas en alcohol etílico del 50%. Tiempo mínimo para cada lavado (e inicio de deshidratación) 1/2 hora.
- Glicerización: Por tres veces sucesivas 1/4 glicerina pura-3/4 alcohol 50%. Tiempo mínimo 1/2 hora.
- Crio fractura: En nitrógeno líquido.
- Glicerización: Por tres veces sucesivas 1/2 glicerina pura-1/2 alcohol 50%. A continuación tres cambios más con 3/4 glicerina pura-1/4 alcohol 50%. Tiempo mínimo en cada paso 2 horas.
- Glicerización: Por tres veces sucesivas 9/10 glicerina

na pura-1/10 alcohol 50%. Tiempo mínimo en cada paso 3 horas (agitando frecuentemente). Seguidamente 3-4 pasos por glicerina pura, con el mayor tiempo posible en cada paso.

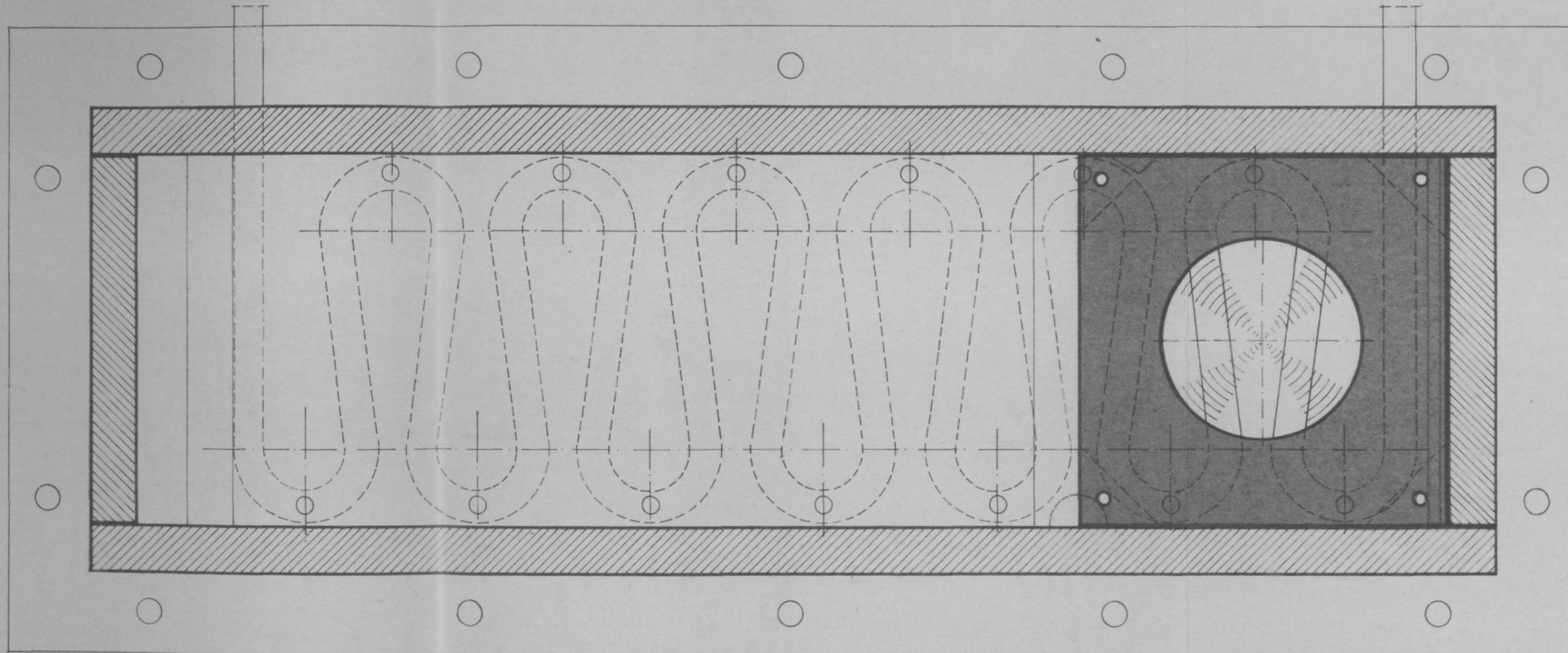
- Montaje sobre el "stub": Se ha de eliminar previamente el exceso de glicerina. Para ello se ponen las muestras sobre un papel de filtro y seguidamente se introducen en alcohol absoluto unos segundos, agitando la muestra. Se observa con la lupa binocular si se ha eliminado el exceso de glicerina. En caso contrario se repiten las anteriores operaciones de este punto. Seguidamente se puede pasar a observar. No es necesario metalizar, aunque para trabajar a más de 2000x es conveniente. Por exceso de glicerina las muestras pueden aparecer brillantes.

2.3.- OTRAS MEDICIONES.

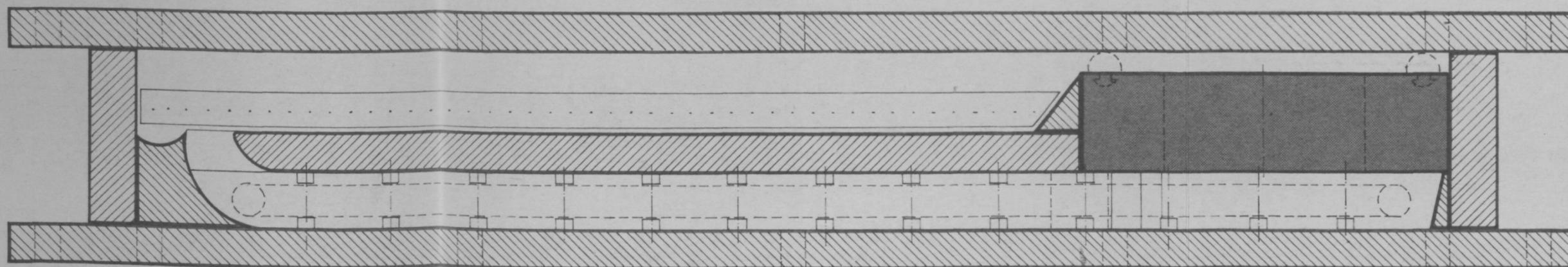
El análisis del contenido en nitrógeno orgánico de la lámina y de la vaina se realizó mediante el método Kjeldahl. Los resultados se refirieron a: % sobre peso seco, mgN/cm^2 , mgN/cm^3 , $\text{mgCO}_2 \cdot \text{mgN}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, $\mu\text{molCO}_2 \cdot \text{mgN}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$.

La conductancia celular se calculó mediante el cociente conductancia del mesófilo/ A^{mes}/A .

El tratamiento de datos se realizó con la ayuda de un miniordenador HP-85 y posteriormente con un HP-87 con "plotter". El conjunto de programas estadísticos empleados fue el de la casa Hewlett Packard.



SECCIÓ
HORITZONTAL



SECCIÓ
VERTICAL

CAMBRA D'INTERCANVI GASÓS PER A FULLES SENSE ESCINDIR

E: 1/1

5º...25/5/82..40 kg de nitrógeno/Ha con Nitrato Amónico.

Total de nitrógeno nítrico y amoniacal: 160 kg/Ha.

El agua no fue un factor limitante. El régimen de riego se adecuó a las características de cada estación y de la ontogenia de la planta. El sistema de riego fue a manta.

Las malas hierbas se eliminaron por escarda manual. Contra los insectos se empleó Dipterex (2gramos de sustancia activa/litro de agua), Perfekthion (1cc/l) y Metasystox (1cc/l). Como fungicida se empleó el Bayleton (6cc/17 l)

Las condiciones de irradiancia, temperatura y humedad relativa se registraron diariamente durante todo el desarrollo de las sucesivas siembras.

Otros aspectos concretos del material y metodología utilizados (mediciones y toma de muestras) están detallados en el inicio del apartado 3. (RESULTADOS).

3.- RESULTADOS

3.- EVOLUCION DE DIVERSOS PARAMETROS FISIOLÓGICOS, MORFOLÓGICOS Y ANATÓMICOS EN Triticum aestivum c.v. KOLIBRI Y SU RELACION CON FACTORES ONTOGENICOS Y AMBIENTALES.

Durante los meses de abril a junio de 1982 se estudió la evolución de las tasas de fotosíntesis neta, a saturación de luz, en la lámina de hojas de Triticum aestivum c.v. Ko libri cultivado en los Campos Experimentales de la Facultad de Biología. Las mediciones, en hojas sin escindir, fueron realizadas "in situ" mediante un sistema de intercambio gaseoso abierto provisto de un IRGA (unas 6 hojas por medición y día), en condiciones de capacidad de campo, y con una temperatura de la hoja de $22 \pm 1.5^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa, aproximada, del 50%.

Paralelamente a la fotosíntesis se midieron los valores de resistencia estomática (s/cm) y de transpiración ($\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{s}$), mediante un autoporómetro de la casa LI-COR, (modelo LI-1600), a la entrada y salida de la cámara de intercambio gaseoso. La humedad relativa para estas mediciones se fijo en el 54%.

Después de las mediciones de intercambio gaseoso se calculó para estas mismas hojas su peso fresco, superficie, (método de la pesada); guardándose una porción de 1 cm. de longitud de la zona media de la hoja (fijada en hidrato de cloral y FAA) para su posterior estudio anatómico. El resto de la hoja medida fue secado en la estufa (100°C durante 24 h.).

A partir de las mediciones de intercambio gaseoso realizadas y de los análisis efectuados sobre las muestras recogidas se calcularon los siguientes parámetros:

A.- FISIOLÓGICOS

A.1.- En lámina.

- Fotosíntesis neta, a saturación de luz ($\mu\text{molCO}_2/\text{m}^2\text{s}$; $\text{mgCO}_2/\text{dm}^2\text{h}$)
- Conductancia estomática, para el CO_2 , a través del haz (cm/s)

- Conductancia estomática, para el CO₂, a través del envés (cm/s)
- Conductancia estomática total, para el CO₂ (cm/s)
- Conductancia del mesófilo, para el CO₂ (cm/s)
- Resistencias a la difusión del CO₂, del haz, envés, total estomática y del mesófilo (inverso de los anteriores parámetros) (s/cm)
- Concentración de CO₂ en los espacios intercelulares (ppm)
- Transpiración de la hoja por el haz (ugH₂O/cm²s)
- Transpiración de la hoja por el envés (ugH₂O/cm²s)
- Transpiración total de la hoja (ugH₂O/cm²s)
- Conductancia celular, para el CO₂, del mesófilo (cm/s)
- % Nitrógeno, mitad inferior de la lámina (método Kjeldahl)
- % Nitrógeno, mitad superior de la lámina (método Kjeldahl)
- % Nitrógeno global de la lámina (método Kjeldahl)
- mg Nitrógeno / cm² mitad inferior de la lámina
- mg Nitrógeno / cm² mitad superior de la lámina
- mg Nitrógeno / cm² de lámina
- mg Nitrógeno / cm³ de mesófilo de la lámina
- % peso seco de la lámina

A.2.- En vaina (únicamente para las hojas de bandera de la tercera siembra)

- % Nitrógeno global de la vaina
- mg Nitrógeno / cm² de vaina

A.3.- En espiga (únicamente para la tercera siembra)

- Incremento en peso de la espiga (gr. peso seco)
- Llenado del grano (mg. peso seco/grano)
- Evolución en el peso seco de glumas y glumelas por espiguillas (mg glumas , glumelas/espiguilla)

B.- MORFOLOGICOS

B.1.- En lámina

- Superficie de la lámina (cm²)

- Anchura de la lámina (mm)
- Longitud de la lámina (mm)
- Peso específico foliar, mitad inferior de la lámina (mg/cm²)
- Peso específico foliar, mitad superior de la lámina (mg/cm²)
- Peso específico foliar global, de la lámina (mg/cm²)
- Densidad estomática del haz (estomas/mm²)
- Densidad estomática del envés (estomas/mm²)
- Densidad estomática total de la lámina (estomas/mm²)
- Densidad de tricomas en el haz (tricomas/mm²)
- Densidad de tricomas en el envés (tricomas/mm²)

B.2.- En vaina (únicamente para las hojas de bandera de la tercera siembra)

- Superficie de la vaina (cm²)
- Longitud de la vaina (mm)
- Diámetro de la vaina (mm)
- Peso específico de la vaina (mg/cm²)

B.3.- En espiga (pertenecientes a la tercera siembra)

- Longitud de la espiga (mm)
- Número de espiguillas por espiga
- Número de granos por espiga

B.4.- En tallo (correspondientes a las espigas de la tercera siembra)

- Peso específico de la sección de tallo envuelto por la vaina (mg/cm²)
- Peso específico de la estipe (mg/cm²)

C.- ANATOMICOS

C.1.- En lámina

- Distancia entre vasos (mm)
- Volumen del mesófilo (cm³/dm²)

- Sección transversal celular (u^2)
- Número de secciones transversales celulares, por milímetro
- Area del mesófilo / area foliar de la lámina.
- Anchura del mesófilo / distancia entre vasos
- Morfología y disposición celular en el mesófilo de hojas vegetativas y de bandera (secciones longitudinales y transversales)
- Observaciones cualitativas, mediante microscopio electrónico de transmisión y barrido, sobre la disposición, densidad, morfología, dimensiones y estructura de los cloroplastos (sólo para hojas desarrolladas durante el período vegetativo y de bandera).

El estudio de todos los anteriores parámetros enumerados se ha llevado a cabo en función de las siguientes líneas de investigación:

3.1. EVOLUCION DE DIVERSOS FACTORES FISIOLÓGICOS, MORFOLÓGICOS Y ANATÓMICOS, EN SUCESIVAS HOJAS, PERTENECIENTES A UNA SIEMBRA DE PRIMAVERA DE Triticum aestivum L. C.V. KOLIBRI.

3.2. VARIACIONES FISIOLÓGICAS, MORFOLÓGICAS Y ANATÓMICAS EN HOJAS PENULTIMA Y DE BANDERA, DE Triticum aestivum L. C.V. KOLIBRI, PERTENECIENTES A TRES DIFERENTES EPOCAS DE SIEMBRA.

3.3. EVOLUCION EN LAS TASAS DE FOTOSÍNTESIS NETA, A SATURACION DE LUZ, Y OTROS PARÁMETROS RELACIONADOS, EN HOJAS DE BANDERA, PERTENECIENTES A UNA SIEMBRA DE PRIMAVERA DE Triticum aestivum L. C.V. KOLIBRI.

El conjunto del material fotográfico, producto de las observaciones microscópicas, se ha recopilado en una sección aparte:

3.4. OBSERVACIONES SOBRE LA MORFOLOGÍA, ANATOMÍA Y ULTRAESTRUCTURA DE LÁMINAS PERTENECIENTES A HOJAS (DEL PERÍODO VEGETATIVO Y DE BANDERA) DE Triticum aestivum L. C.V. KOLIBRI.

3.1.- EVOLUCION DE DIVERSOS PARAMETROS FISIOLÓGICOS, MORFOLÓGICOS Y ANATÓMICOS, EN SUCEASIVAS HOJAS PERTENECIENTES A UNA SIEMBRA DE PRIMAVERA DE Triticum aestivum L. C.V. KOLIBRI.

Se han estudiado las tasas de fotosíntesis neta a saturación de luz, así como los demás parámetros fisiológicos, morfológicos y anatómicos especificados en el apartado general, en láminas (unas 6 por medición) totalmente expandidas de sucesivas hojas de Triticum aestivum L. c.v. Kolibri pertenecientes a una siembra de primavera. Las mediciones se efectuaron en cada momento sobre la última hoja con la lámina totalmente expandida, abarcando desde el final del período vegetativo hasta poco antes de la emergencia de la espiga (hoja de bandera). Las láminas medidas correspondieron a las de las seis hojas presentes en el tallo floral al final de su elongación:

1ª hoja.. 6-4-82..período vegetativo.63 d. desde siembra
 2ª hoja..22-4-82.."double ridge".....79 d. desde siembra
 3ª hoja..29-4-82..tallo con 1 nudo...86 d. desde siembra
 4ª hoja.. 8-5-82..tallo con 2 nudos..95 d. desde siembra
 5ª hoja..16-5-82..tallo con 4 nudos.103 d. desde siembra
 6ª hoja..21-5-82..preemerg.espig-5n.108 d. desde siembra

Las hojas 5ª y 6ª correspondieron respectivamente a la hoja penúltima y a la de bandera. Las mediciones realizadas sobre estas dos hojas han sido también consideradas en los apartados 3.2. y 3.3..

3.1.1.- EVOLUCION DE DIFERENTES PARAMETROS MORFOLOGICOS Y ANATOMICOS EN SUCESIVAS HOJAS, PERTENECIENTES A UNA SIEMBRA DE PRIMAVERA DE Triticum aestivum L. C.V.KOLIBRI.

-La TABLA 1-1 presenta (a partir de los valores obtenidos), para el conjunto de los parámetros morfológicos y anatómicos estudiados, la existencia o no de diferencias estadísticamente significativas entre las sucesivas hojas; aparte de exponer la homogeneidad de varianza de las seis muestras de cada parámetro (mediante un análisis de la varianza de un factor, y el test de Bartlett, respectivamente).

-La superficie de la lámina aumenta de la primera a la tercera hoja, (especialmente de la 2ª a la 3ª) disminuyendo en las sucesivas hasta la hoja de bandera (fig. 1-1).

-Respecto a dos componentes básicos que condicionan la superficie de la lámina: la anchura de la lámina, (calculada en su punto medio) y su longitud, esta última sigue una evolución bastante paralela a la de la superficie, mientras que la anchura de la lámina aumenta en las sucesivas hojas (fig.1-1).

-La densidad estomática aumenta especialmente de la primera a la segunda lámina y posteriormente, aunque en menor cuantía, en la cuarta y en la de bandera (fig.1-2). Excepto en la primera hoja y en la de bandera la diferencia absoluta entre las densidades estomáticas del haz, respecto al envés permanece constante.

-La densidad de tricomas aumenta en las sucesivas hojas y en especial, de forma acusada, a partir de la tercera hoja (fig. 1-3). Ver apartado 3.4.1..

-El peso específico foliar en líneas generales aumenta de la primera a la tercera hoja, disminuyendo después

hasta la hoja penúltima y aumentando bruscamente en la de bandera (fig.1-4). El brusco aumento de este parámetro en la hoja de bandera puede estar en relación con un superior acúmulo de asimilados (fig. 1-20, y apartados 3.2.2., 3.3.2.).

-La distancia entre vasos disminuye acusadamente de la primera a la segunda hoja, manteniéndose constante hasta la penúltima, y disminuyendo nuevamente en la hoja de bandera (fig. 1-5).

-El volumen del mesófilo disminuye de forma continuada desde la primera hoja hasta la de bandera, y de forma especial de la penúltima a la de bandera (fig. 1-6). La evolución del volumen del mesófilo guarda muy poca relación con la del peso específico foliar; incluso para las tres primeras hojas y la de bandera aparecen opuestas.

-El cociente Area del Mesófilo/Area Foliar se mantiene bastante estable hasta la cuarta hoja, disminuyendo claramente, a partir de la misma, hasta la hoja de bandera (fig. 1-7).

-De forma general, y a pesar de las diferencias ontogénicas entre las sucesivas hojas, parece observarse una respuesta homogénea (en especial a partir de la tercera hoja), en los parámetros morfológicos y anatómicos, frente a un aumento en los niveles de radiación incidente y temperatura ambiente durante el desarrollo de las sucesivas láminas (fig.1-8); así como una disminución en la humedad relativa. Una información detallada sobre las condiciones ambientales de radiación incidente (acumulada), temperatura ambiente, temperaturas máximas y mínimas y humedad relativa, durante el desarrollo de las láminas, se encuentra en el anexo de tablas. De la tercera hoja a la de bandera hemos visto que se observa una disminución en la longitud y su-

perficie de la lámina, un aumento en la anchura de la misma, un incremento en la densidad de tricomas y estomática; así como un descenso en la distancia entre vasos y un incremento en el peso específico foliar, en el paso de la hoja penúltima a la de bandera. El descenso en volumen del mesófilo, así como en las dimensiones de sus células (subapartado 3.1.1.), parece tener una explicación de tipo ontogénico (ver apartado 3.2.2. y Discusión), aunque no se ha de descartar el efecto de la temperatura (ver Discusión).

3.1.1.1.- PARAMETROS ANATOMICOS QUE CONDICIONAN EL VOLUMEN DEL MESOFILO, ASI COMO EL COCIENTE AREA DEL MESOFILO/AREA FOLIAR.

- El tamaño de la sección transversal celular disminuye de forma continua para las sucesivas hojas, excepto en la tercera; acabando con unos valores cercanos a la tercera parte de los iniciales en la hoja de bandera (fig.1-9).
- El número de secciones transversales celulares (por milímetro), no presenta una evolución clara para las sucesivas hojas. Presenta dos máximos: el primero para la segunda hoja y el segundo en la cuarta hoja. De todas formas las diferencias no suponen, en ningún caso, más de una quinta parte sobre los valores máximos (fig. 1-10).
- Respecto a la importancia relativa de estos dos parámetros sobre el cociente área del mesófilo/área foliar, la evolución de este cociente (fig.1-7) es bastante similar a la de la sección transversal celular (fig.1-9). Unicamente se observa el efecto del número de secciones transversales celulares en un amortiguamiento del descenso en el cociente área del mesófilo/área foliar en las sucesivas hojas; especialmente en el paso de la tercera a la cuarta hoja. Considerando ambos parámetros

anatómicos conjuntamente, como variables independientes en un ajuste multilíneal en el que la variable dependiente sea el cociente área del mesófilo/área foliar, se obtiene:

Considerando la variable 1ª. Núm. sec. transver. celulares/mm
la variable 2ª. Sección transversal celular

INFLUENCIA DE LA REGRESION	=	44.96 %
INFLUENCIA DEL ERROR	=	55.04 %

INFLUENCIA DE LA VARIABLE (1)	=	8.50 %
INFLUENCIA DE LA VARIABLE (2)	=	35.37 %

Se ha de tener en cuenta que la variable sección transversal celular, aunque se exprese en unidades de superficie (u^2), nos da una idea del volumen de la célula y no de su superficie externa, lo que explica su influencia relativamente baja, así como el tamaño tan grande del error.

-Respecto a la influencia de ambos parámetros ambientales sobre el volumen del mesófilo, (fig.1-6) también parece que sea la sección transversal celular la responsable básica en la evolución del volumen del mesófilo; suavizando algo su descenso el número de secciones transversales celulares. Consideramos conjuntamente el efecto del número de secciones transversales celulares y de las dimensiones de la sección transversal celular sobre el volumen del mesófilo, mediante su ajuste a una ecuación multilíneal doble:

Considerando la variable 1ª. Sección transversal celular (u^2)
la variable 2ª. Núm. sec. transver. celulares/mm

INFLUENCIA DE LA REGRESION	=	86.97 %
INFLUENCIA DEL ERROR	=	13.03 %

INFLUENCIA DE LA VARIABLE (1)	=	94.27 %
INFLUENCIA DE LA VARIABLE (2)	=	-9.42 %

COEFICIENTES DE DETERMINACION INCREMENTAL

INFLUENCIA DE LA VARIABLE (1) POR SI SOLA	=	84.76 %
INFL. DE LA VAR. (2) TENIDA(S) EN CUENTA LA(S) ANT.	=	2.21 %

Invirtiendo las variables:

COEFICIENTES DE DETERMINACION INCREMENTAL

INFLUENCIA DE LA VARIABLE (1) POR SI SOLA	=	24.11 %
INFL. DE LA VAR. (2) TENIDA(S) EN CUENTA LA(S) ANT.	=	62.86 %

-De los anteriores resultados se desprende que el principal parámetro responsable de la evolución del volumen del mesófilo, así como del cociente área del mesófilo/área foliar, es la dimensión de la sección transversal celular (ver así mismo, el apartado 3.4.1.).

ANALISIS DE LA VARIANZA DE UN FACTOR (6 SUCESIVAS HOJAS)

TEST DE BARLETT PARA PROBAR LA HOMOGENEIDAD DE VARIANZA DE LAS 6 MUESTRAS: VER SI HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE MEDIAS CUADRADAS

PARAMETROS MORFOLOGICOS Y ANATOMICOS

	ANALISIS DE LA VARIANZA		TEST DE BARLETT		MUESTRAS NO HOMOGE- NEAS niv.sig.al 5%
	F (5,32g.1.)	PROB.F	X ² (5g.1.)	PROB.X ²	
SUPERFICIE	10,1531	0,0000	3,869	0,5684	
LONGITUD LAMINA	12,6713	0,0000	4,4475	0,4869	
ANCHURA LAMINA	25,6930	0,0000	9,5936	0,0876	
DENSIDAD ES- TOMATICA HAZ	22,9735	0,0000	11,5606	0,0413	X
DENSIDAD ESTO- MATICA ENVES	16,1457	0,0000	3,2578	0,6603	
DENSIDAD ESTO- MATICA TOTAL	25,0389	0,0000	4,6746	0,4569	
DENSIDAD TRI- COMAS HAZ	75,3529	0,0000	33,6178	0,0000	X
PESO ESPECI- FICO FOLIAR	5,0798	0,0015	7,7207	0,1723	
DISTANCIA VASOS	21,2178	0,0000	17,0055	0,0045	X
	F (5,30g.1.)		X ² (5g.1.)		
VOLUMEN MESOFILO	46,5887	0,0000	7,5133	0,1852	
N° SECCIONES TRANS.CEL./mm.	4,4106	0,0040	0,9232	0,9685	
SUP. SECCION TRANS.CELULAR	39,9633	0,0000	6,3906	0,2700	
AREA MESOFILO/ AREA FOLIAR	5,1981	0,0015	3,1843	0,6716	

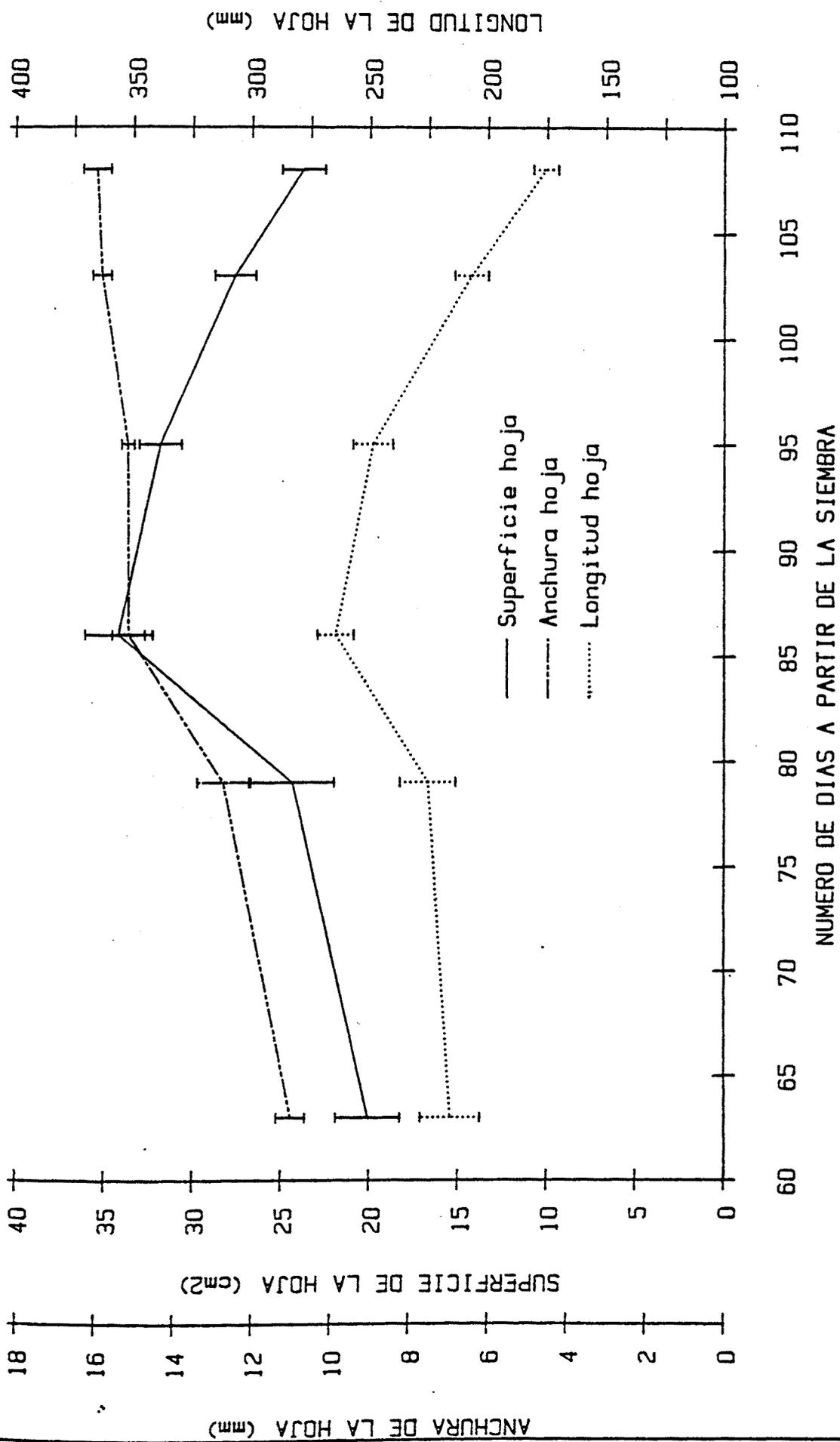


FIG. 1-1

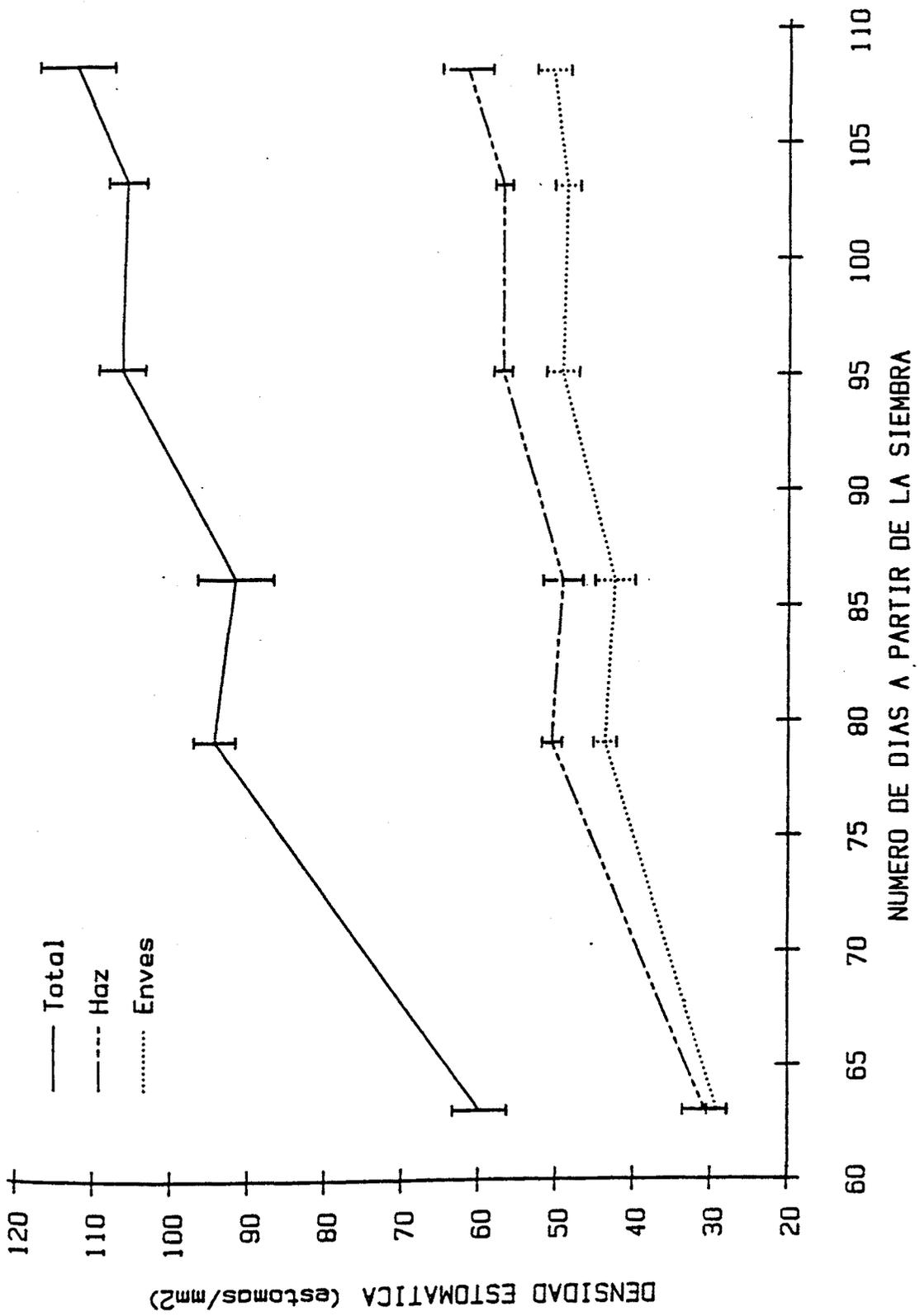


FIG. 1-2

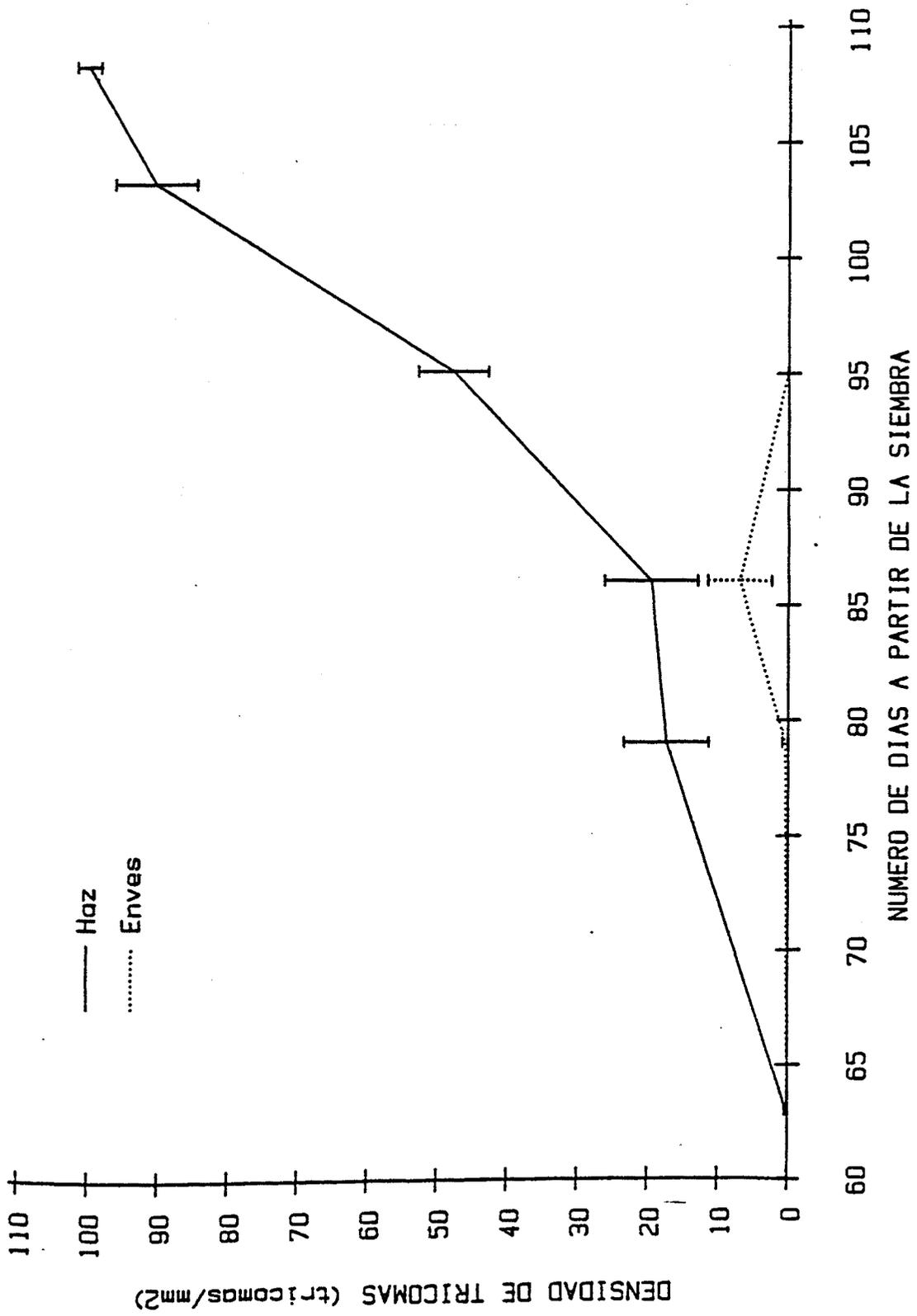


FIG. 1-3

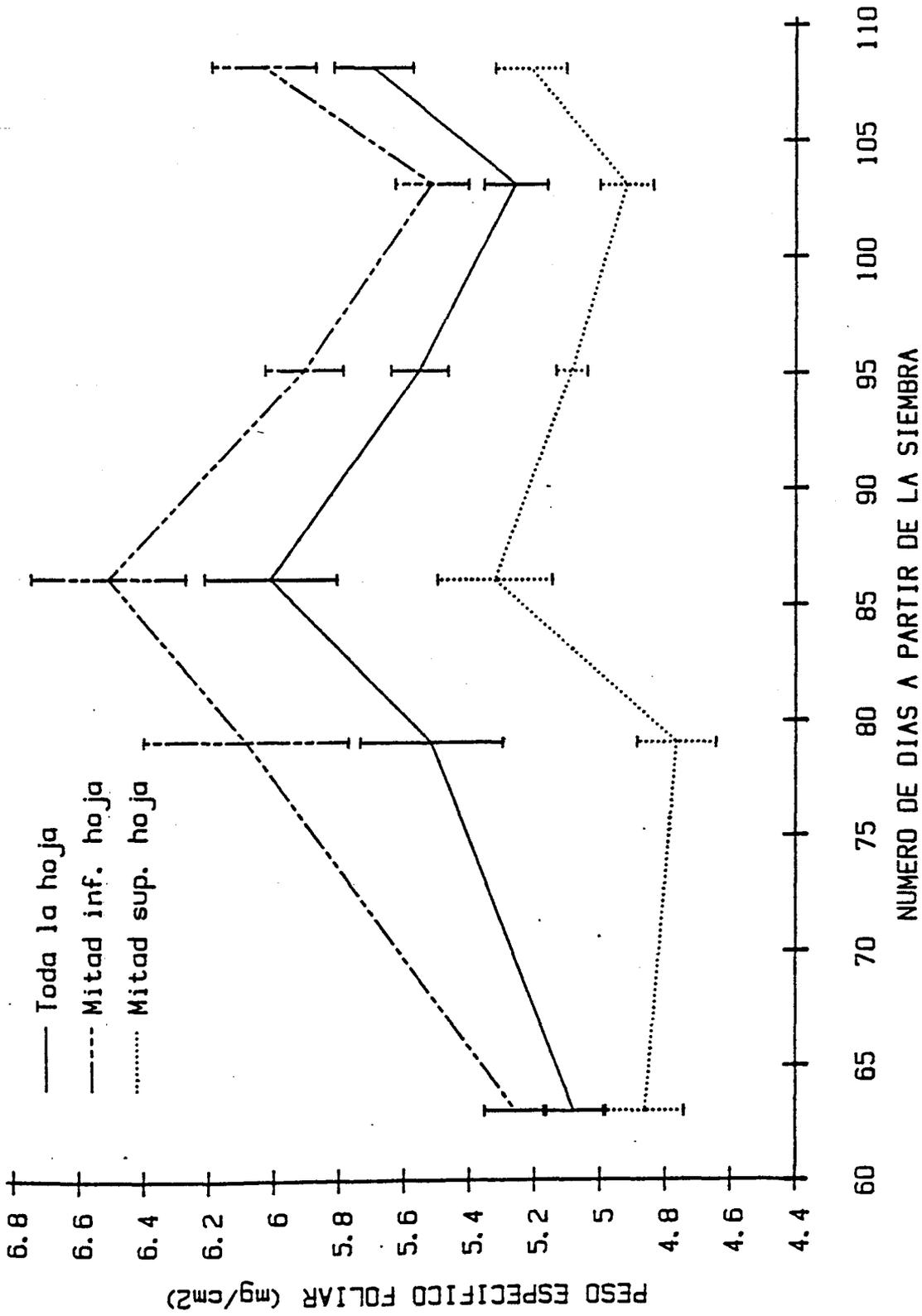


FIG. 1-4

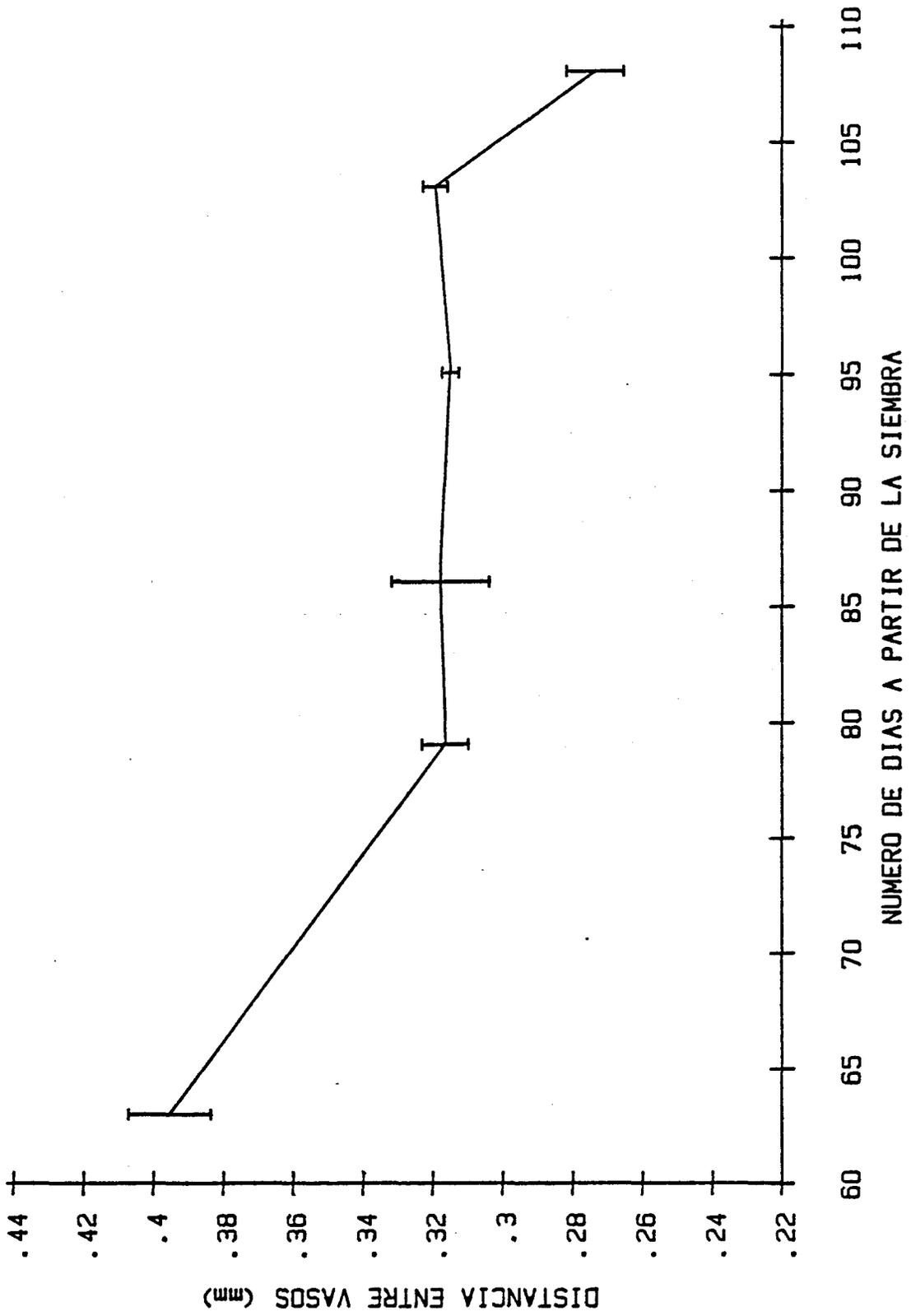


FIG. 1-5

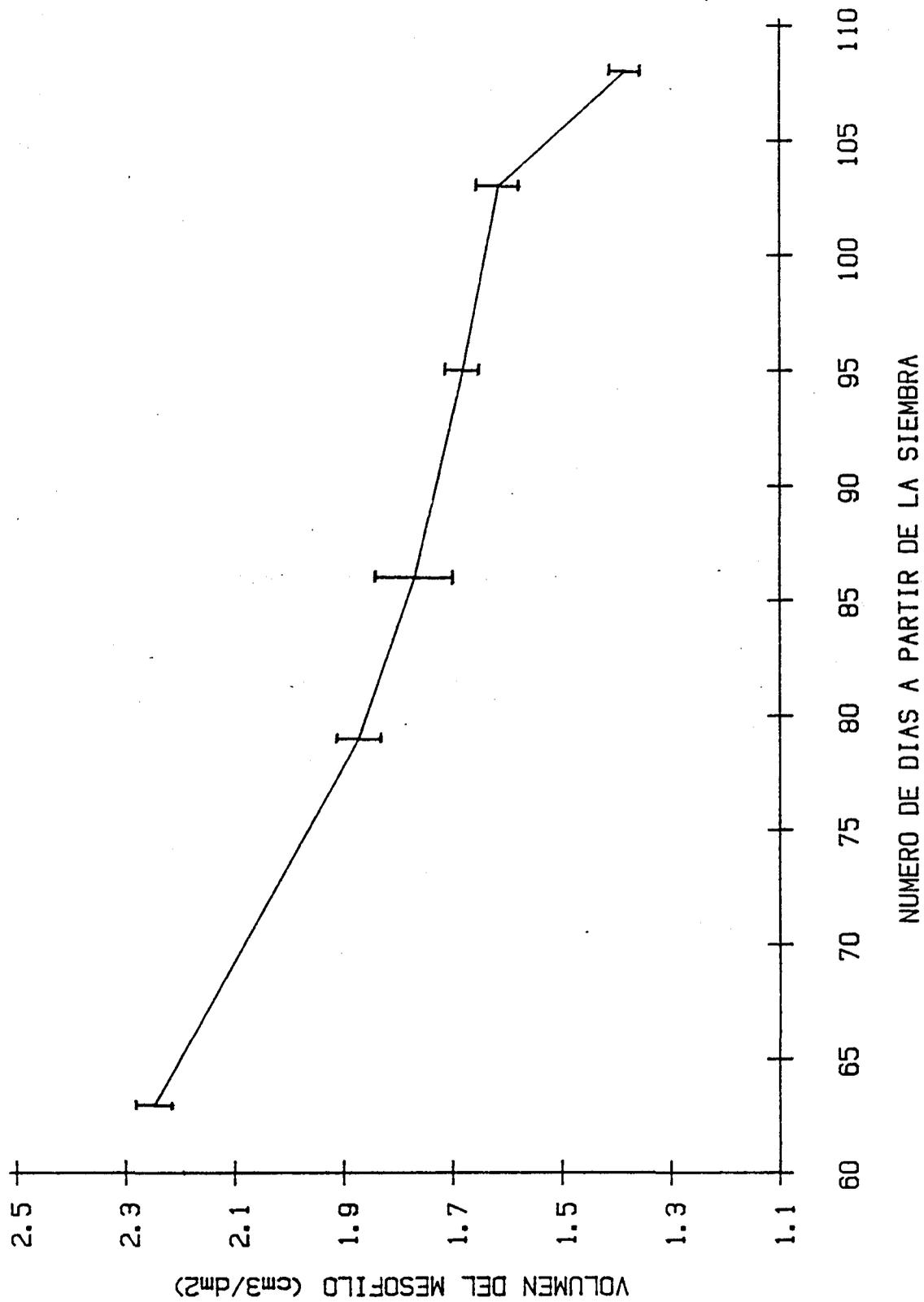
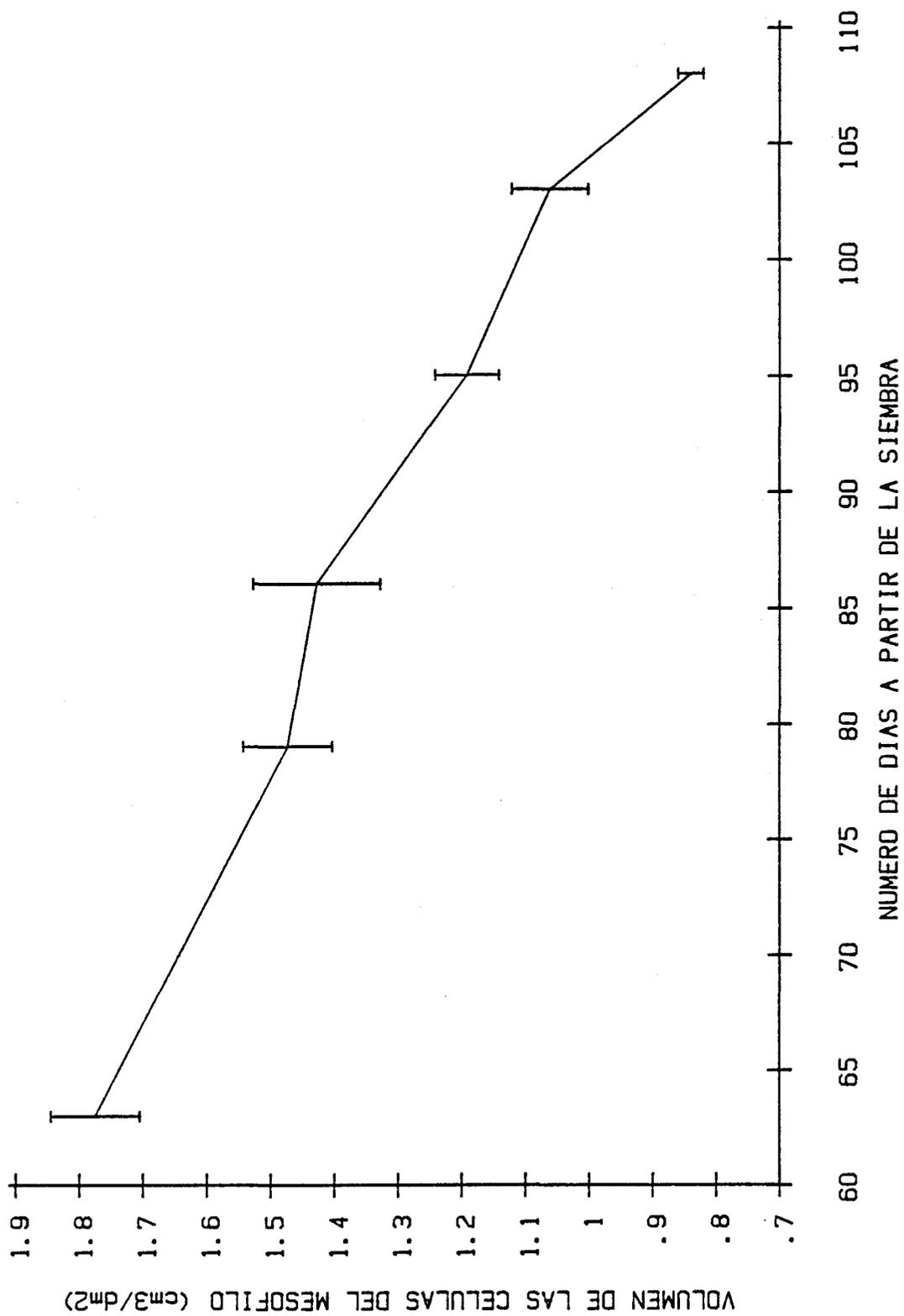


FIG. 1-6



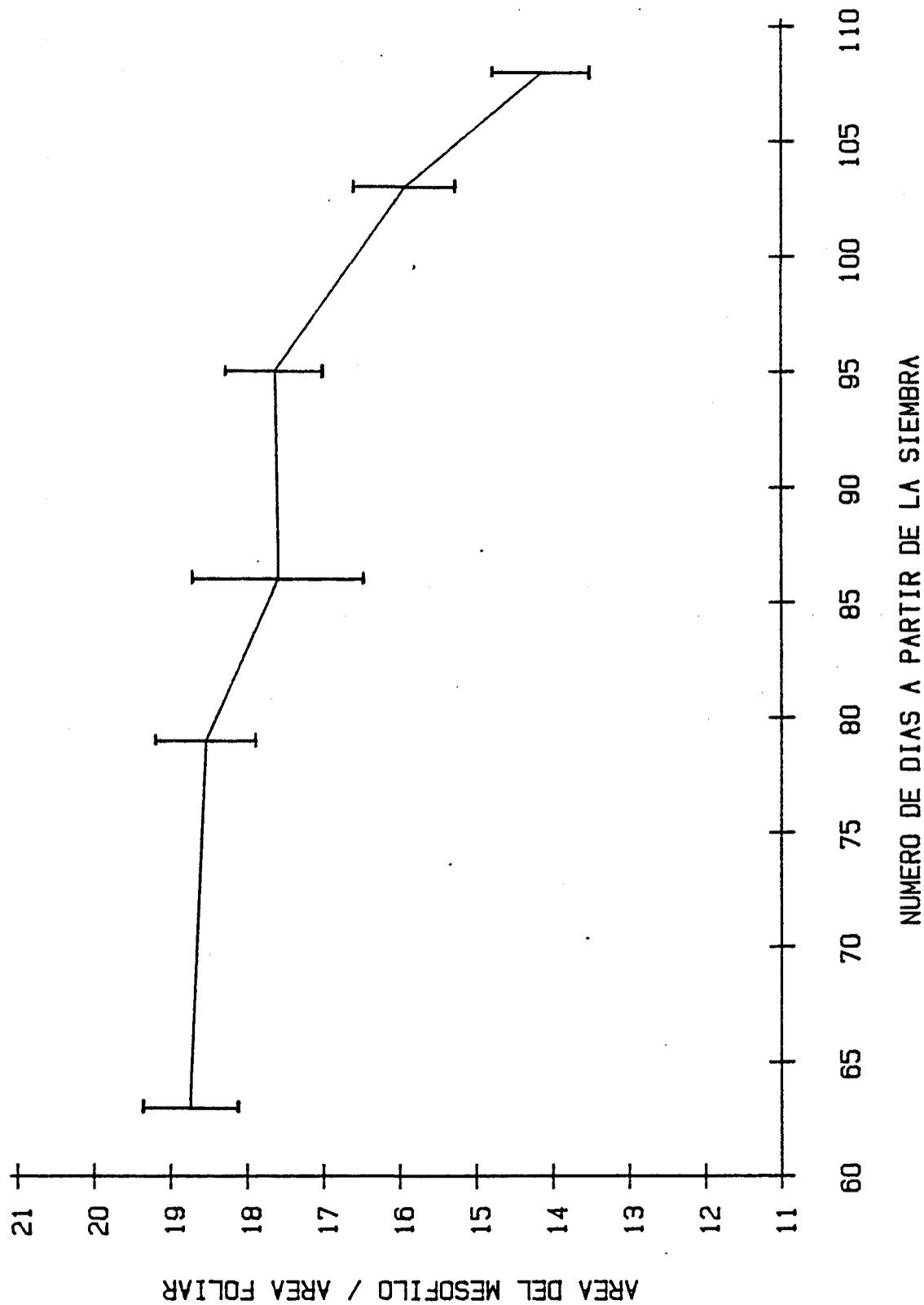


FIG. 1-7

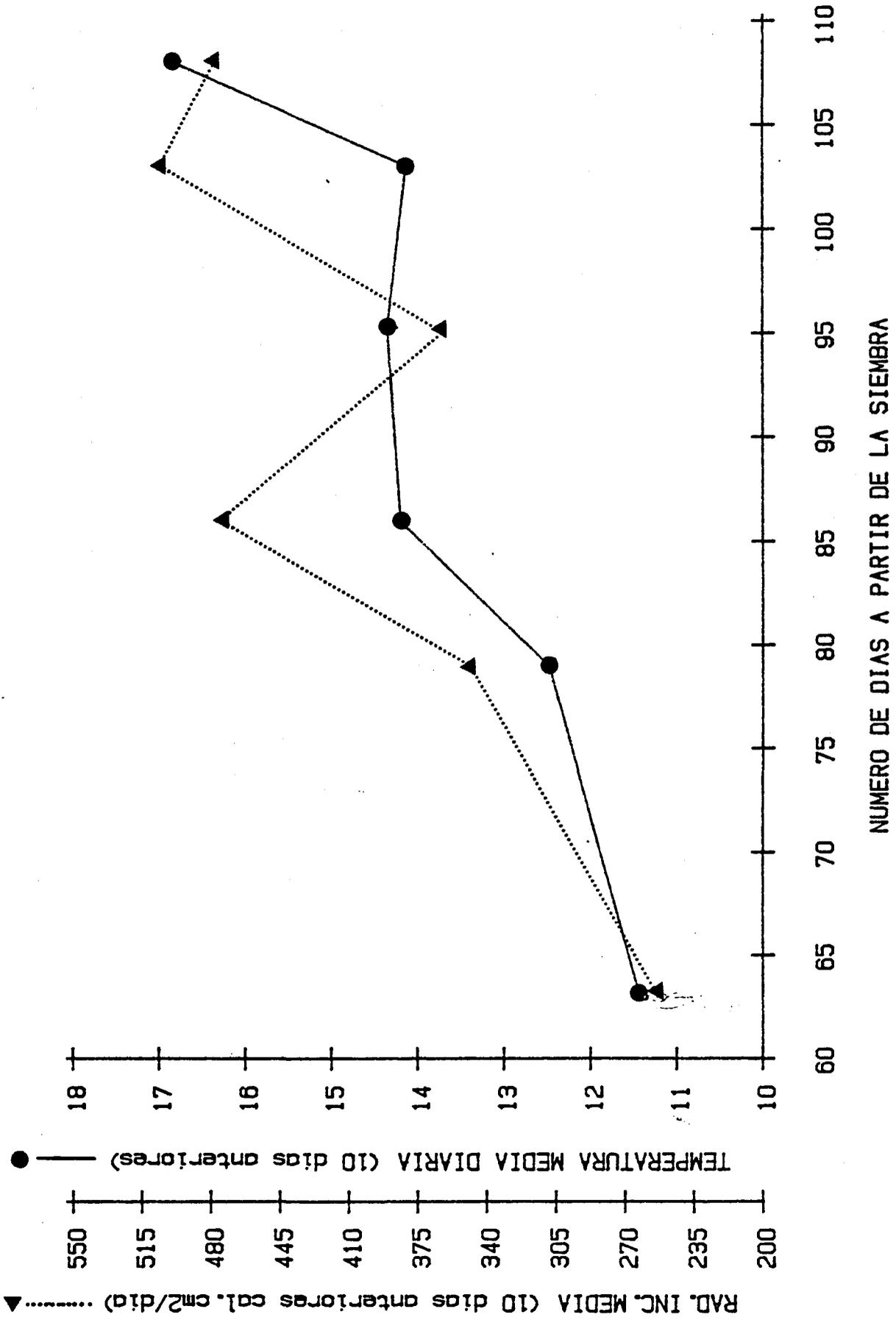


FIG. 1-8

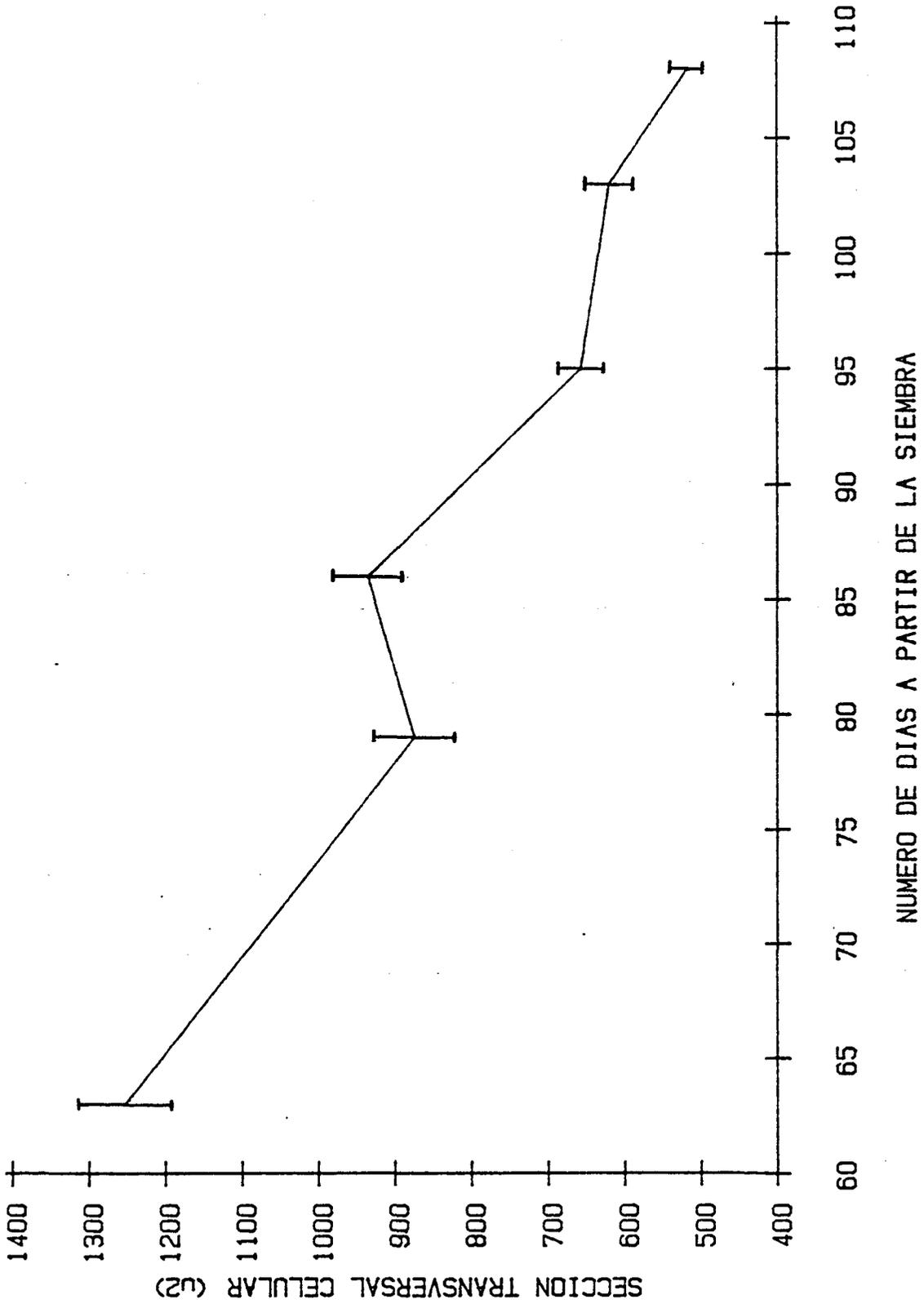


FIG. 1-9

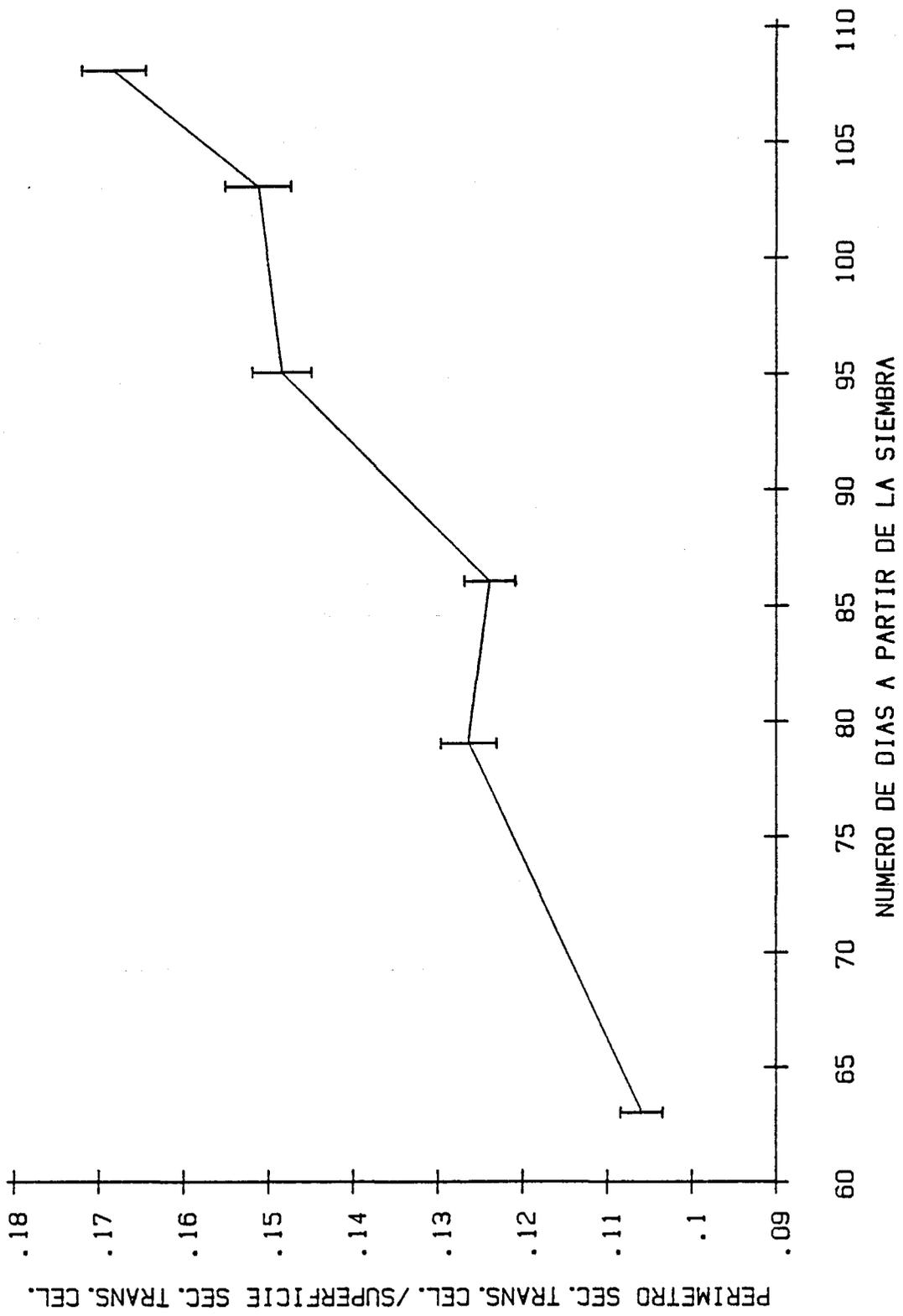


FIG. 1-9'

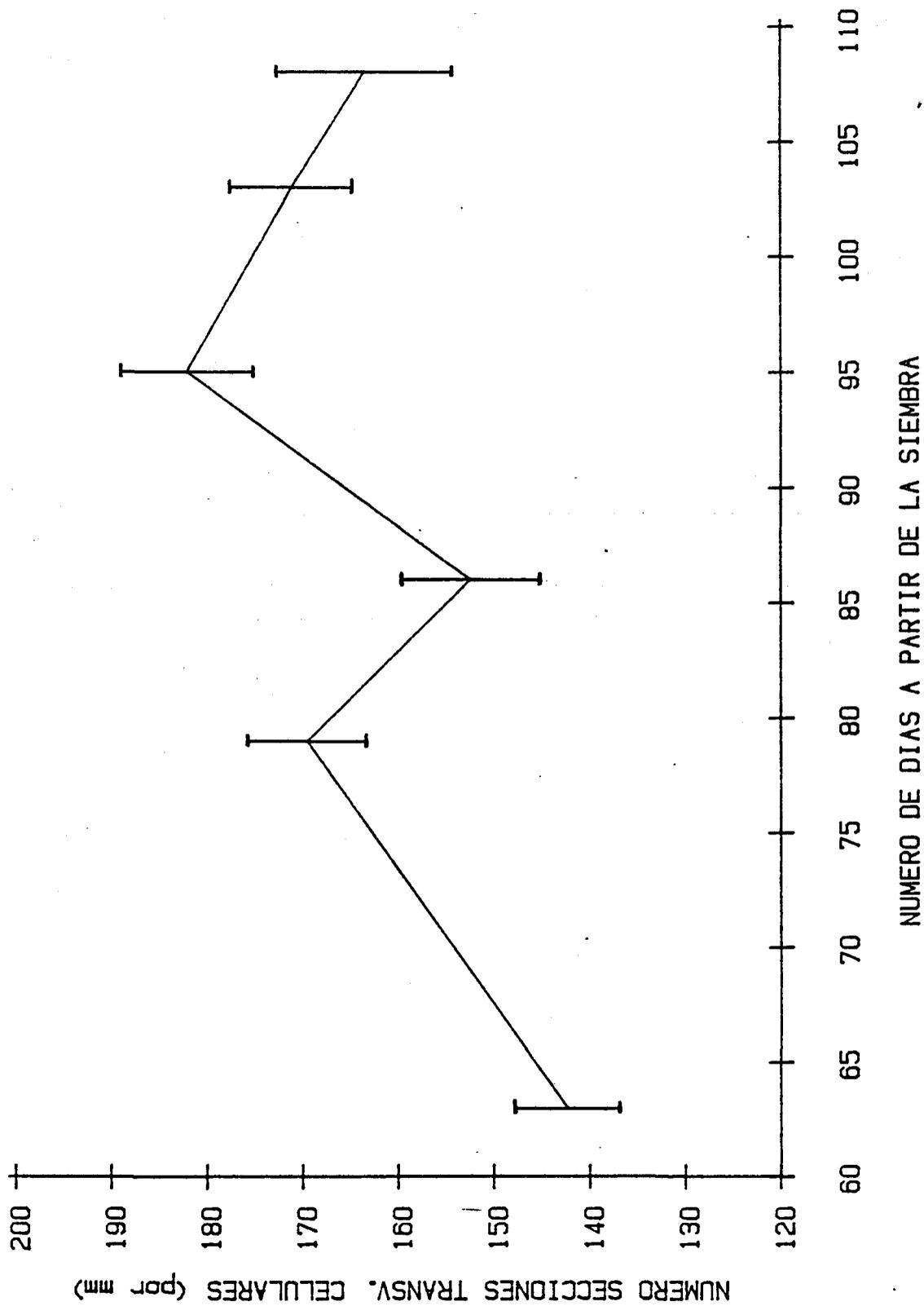


FIG. 1-10 .

3.1.2.- EVOLUCION DE LAS TASAS DE FOTOSINTESIS NETA A SATURACION DE LUZ, Y OTROS PARAMETROS RELACIONADOS, EN SUCESIVAS HOJAS PERTENECIENTES A UNA SIEMBRA DE PRIMAVERA DE Triticum aestivum L. C.V. KOLIBRI.

- Las tasas de fotosíntesis neta a saturación de luz (referidas a superficie) muestran un claro máximo en la segunda hoja, a partir del cual desciende para la siguiente hoja, y se mantienen relativamente constantes hasta la hoja penúltima, descendiendo algo en la de bandera (fig.1-11).
- La conductancia estomática total, así como las parciales del haz y del envés, aumentan a partir de la segunda hoja hasta la hoja de bandera (fig. 1-12).
- Del mismo modo, la transpiración, tanto total como parciales, aumenta: suavemente en las cuatro primeras hojas y de forma más brusca en las dos últimas; posiblemente por las condiciones de radiación y temperatura (consultar anexo de tablas) (fig. 1-13).
- La concentración de CO₂ en los espacios intercelulares a partir de la segunda hoja experimenta un progresivo aumento, con una evolución claramente opuesta a la de las tasas fotosintéticas, lo que sugiere que las concentraciones de CO₂ en los espacios intercelulares, por lo menos a partir de la tercera hoja, no son limitantes para la fotosíntesis. Un descenso en las tasas de fotosíntesis (aumento en la resistencia del mesófilo), unido a un incremento en los valores de conductancia estomática justificarían el incremento en la concentración de CO₂ de los espacios intercelulares (fig. 1-14).
- Para el conjunto de mediciones de las sucesivas hojas la correlación existente entre la conductancia estomática y sus correspondientes tasas de fotosíntesis neta es prácticamente nula ($R=0.000$) (fig.1-15), lo que apo-

ya la hipótesis del último punto. Sin embargo, con siderada cada sucesiva hoja individualmente el resultado es algo diferente (fig.1-16). Se observa que para la segunda hoja, y en menor medida para la tercera, sus tasas de conductancia estomática resultan li mitantes para la fotosíntesis. Para el resto de hojas, su escasa pendiente, así como sus no significativi vos coeficientes de correlación (R), para los grados de libertad existentes, indican unos valores de conductancia estomática no limitantes de la fotosíntesis para aquellas hojas concretas. Los coeficientes de correlación son para las sucesivas hojas: $R=0.4785$ (4 g.l.), $R=0.9818$ (4 g.l.), $R=0.8820$ (4.g.l.), $R=0.4123$ (4 g.l.), $R=0.3873$ (5 g.l.), $R=0.6957$ (8 g.l.).

-La resistencia del mesófilo lógicamente presenta una evolución, para las sucesivas hojas, opuesta a la de las tasas fotosintéticas (fig.1-17). Por otra parte, la relación entre las tasas fotosintéticas y las de resistencia del mesófilo, para el conjunto de mediciones de las sucesivas hojas, se ajusta bastante bien (como cabría esperar) a una ecuación de ti po potencial (fig.1-18). Este resultado apoyaría la hipótesis de los dos últimos puntos respecto a que ni la conductancia estomática, ni la concentración correspondiente de CO_2 en los espacios intercelulares resultan limitantes de la fotosíntesis (por lo menos en gran medida) en las sucesivas hojas. Unicamente en las mediciones de la primera hoja parece que la conductancia estomática esté implicada en un descenso de sus tasas fotosintéticas.

-La conductancia celular aumenta a partir de la primera hoja, manteniéndose bastante constante, aunque con tendencia a disminuir de la segunda a la cuarta hoja (hay que considerar la elevada magnitud relativa del error estandar), aumentando en las dos últi-

mas (fig.1-19).

-Respecto al % de peso seco sobre peso fresco de la lámina, éste va aumentando en las sucesivas hojas, y de forma especial en la de bandera (fig. 1-20).

-Para averiguar el efecto relativo de los dos parámetros básicos que condicionan las tasas fotosintéticas (la resistencia estomática y la del mesófilo) realizaremos un ajuste multilíneal de segundo grado. Considerando la resistencia del mesófilo como variable primera, y la resistencia estomática como variable segunda, obtenemos los siguientes resultados:

INFLUENCIA DE LA REGRESION	=	94.23 %
INFLUENCIA DEL ERROR	=	5.77 %

INFLUENCIA DE LA VARIABLE (1)	=	91.77 %
INFLUENCIA DE LA VARIABLE (2)	=	-.02 %

COEFICIENTES DE DETERMINACION INCREMENTAL

INFLUENCIA DE LA VARIABLE (1) POR SI SOLA	=	83.40 %
INFL. DE LA VAR. (2) TENIDA(S) EN CUENTA LA(S) ANT.	=	10.82 %

Invirtiendo las variables:

COEFICIENTES DE DETERMINACION INCREMENTAL

INFLUENCIA DE LA VARIABLE (1) POR SI SOLA	=	.00 %
INFL. DE LA VAR. (2) TENIDA(S) EN CUENTA LA(S) ANT.	=	94.23 %

3.1.2.1.- EVOLUCION DEL CONTENIDO EN NITROGENO (% ,mgN/cm²) EN SUCESIVAS HOJAS PERTENECIENTES A UNA SIEMBRA DE PRIMAVERA DE Triticum aestivum L. C.V. KOLIBRI, Y SU RELACION CON LA RESISTENCIA DEL MESOFILO.

-El contenido en nitrógeno de la lámina, (% sobre peso seco) desciende desde la primera hoja hasta la tercera, manteniéndose estable hasta la penúltima, y descendiendo bruscamente en la de bandera (fig. 1-21). Este comportamiento podría estar relacionado con un incremento sucesivo en los niveles de radiación, así como un descenso en los valores de humedad relativa (ver tablas del anexo y Discusión).

-Si referimos el contenido de nitrógeno respecto a unidad de superficie de lámina, el descenso es más paulatino y constante, no seguido únicamente por la hoja tercera (fig. 1-22).

-Si comparamos los valores de la relación contenido en nitrógeno (por unidad de superficie)-resistencia del mesófilo, correspondientes a las mediciones de las cinco primeras hojas, respecto a la ecuación obtenida por el ajuste para todos los valores de la hoja de bandera (ver apartado 3.3.1.2.1.) hasta su senescencia, vemos que casi todos los valores de las hojas anteriores a la de bandera se disponen por debajo del citado ajuste, especialmente los de la segunda hoja (fig.1-23). La misma relación, para el conjunto de valores de las seis hojas, se ajusta a una correlación de tipo potencial, negativa y significativa ($R=-0.4909$, con 39 g.l. $p=0.01\%$).

-Si realizamos las mismas comparaciones que en el punto anterior, pero considerando el contenido en nitrógeno respecto a peso seco: para la primera comparación (fig.1-24) los valores de las cinco primeras hojas, aunque en general por debajo, tien

den a distribuirse más homogéneamente, que en el anterior punto, a lo largo del ajuste para la hoja de bandera. Es de destacar que los valores de la segunda hoja continúan siendo los que se disponen más alejados (por debajo); acercándose paulatinamente los valores de las sucesivas hojas hacia los de la función obtenida para la hoja de bandera. Por otra parte, es significativo de que todos los valores medidos para la primera hoja se dispongan por encima de dicha función. La misma relación, pero para el conjunto de valores de las seis sucesivas hojas, se ajusta a una correlación negativa, de tipo potencial, y más significativa que la obtenida con el nitrógeno por unidad de superficie ($R=-0.6928$, con 39 g.l., $p \leq 0.001$) (fig.1-25).

-El nitrógeno por unidad de volumen aumenta desde la primera a la tercera hoja, manteniéndose seguidamente bastante constante hasta la hoja de bandera (fig. 1-26). De todas formas, la magnitud de los errores estandar resta validez a las tendencias observadas.

ANALISIS DE LA VARIANZA DE UN FACTOR (6 SUCESIVAS HOJAS)

TEST DE BARLETT PARA PROBAR LA HOMOGENEIDAD DE VARIANZA DE LAS 6 MUESTRAS: VER SI HAY DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE MEDIAS CUADRADAS

PARAMETROS FISIOLÓGICOS

	ANALISIS DE LA VARIANZA		TEST DE BARLETT		MUESTRAS NO HOMOGE- NEAS niv.sig. al 5%
	F (5,32g.l.)	PROB.F	X ² (5g.l.)	PROB.X ²	
FOTOSINTESIS NETA	4,3742	0,0038	2,5682	0,7662	
CONDUCTANCIA ESTOMAT. HAZ	8,2569	0,0000	10,3959	0,0648	
CONDUCTANCIA EST. ENVES	4,3617	0,0039	8,5613	0,1279	
CONDUCTANCIA ESTOMAT. TOTAL	7,6980	0,0001	5,9666	0,3095	
TRANSPIRA- CION HAZ	12,3273	0,0000	12,0128	0,0346	X
TRANSPIRA- CION ENVES	5,6087	0,0008	7,1149	0,2122	
TRANSPIRA- CION TOTAL	10,7772	0,0000	11,0386	0,0506	
[CO ₂] INTER CELULAR	26,6154	0,0000	5,6765	0,3390	
RESISTENCIA MESOFILO	7,4498	0,0001	6,9290	0,2260	
CONDUCTANCIA CELULAR	1,8752	0,1284	6,1517	0,2917	
% N EN PESO SECO LAMINA	19,5109	0,0000	6,0935	0,2972	
NITROGENO/ SUP. LAMINA	7,5437	0,0001	12,5757	0,0277	X
NITROGENO/ VOL. MESOFILO	1,7211	0,1602	7,1057	0,2129	
% PESO SECO	68,3758	0,0000	5,5298	0,3547	

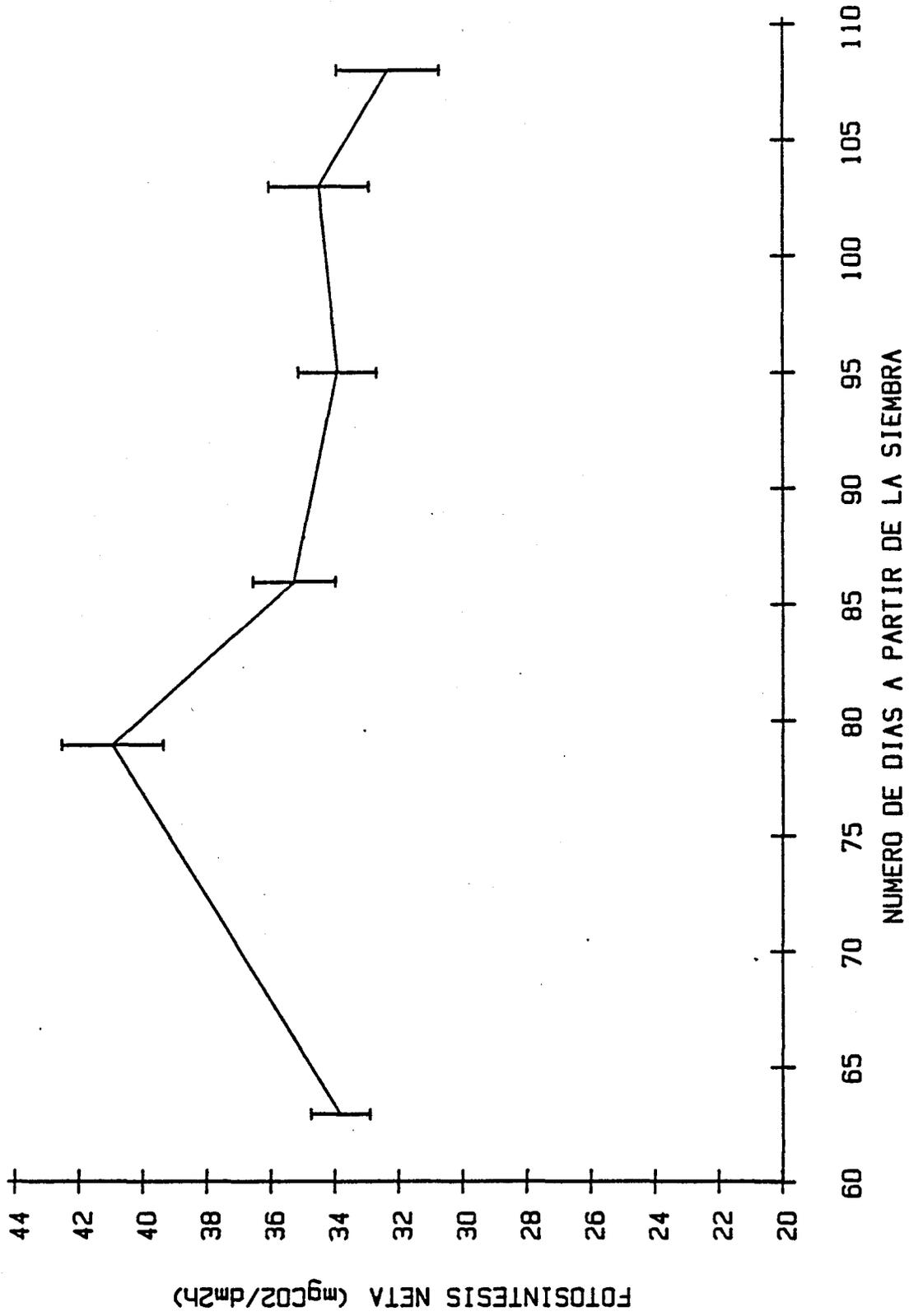


FIG. 1-11

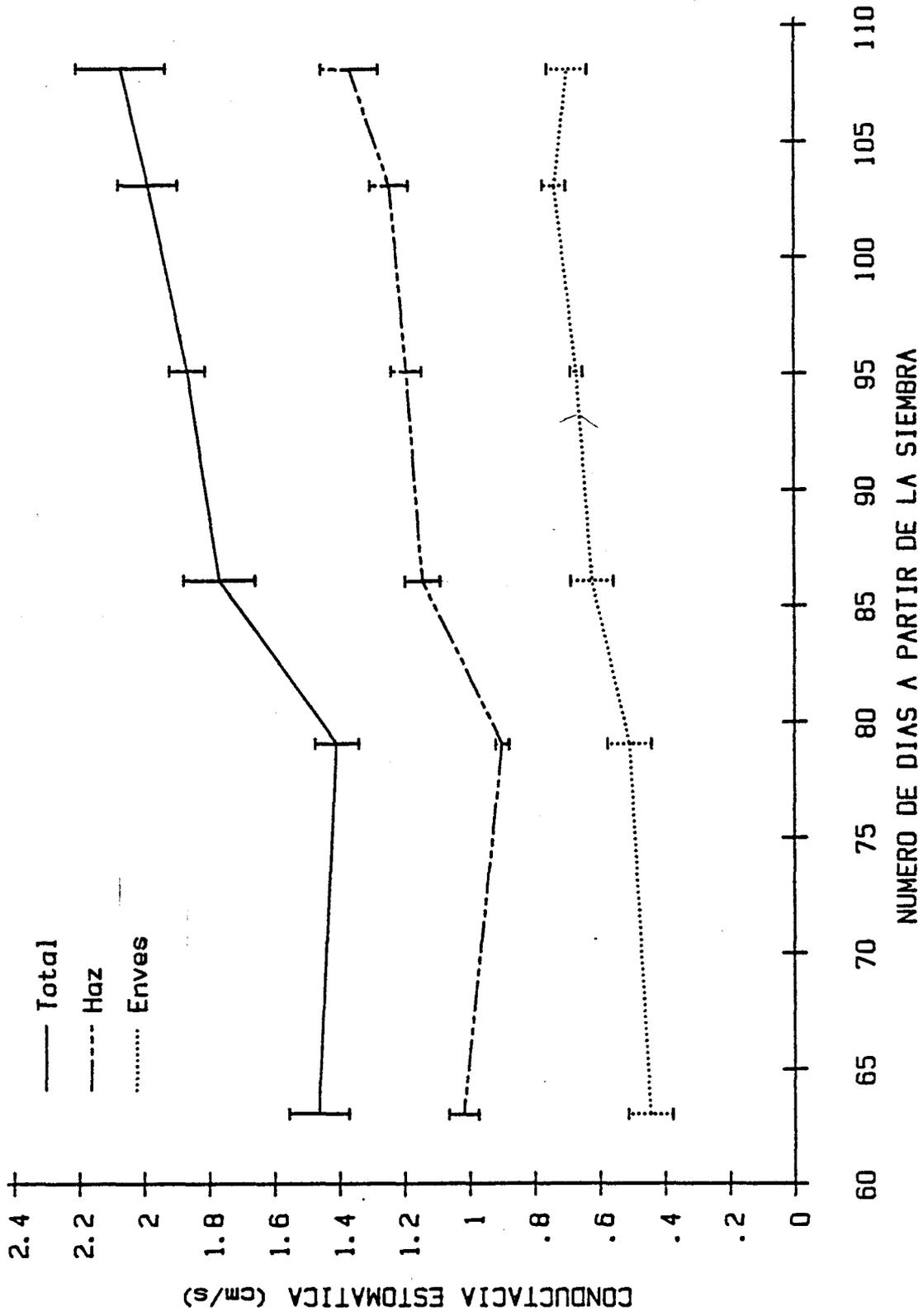
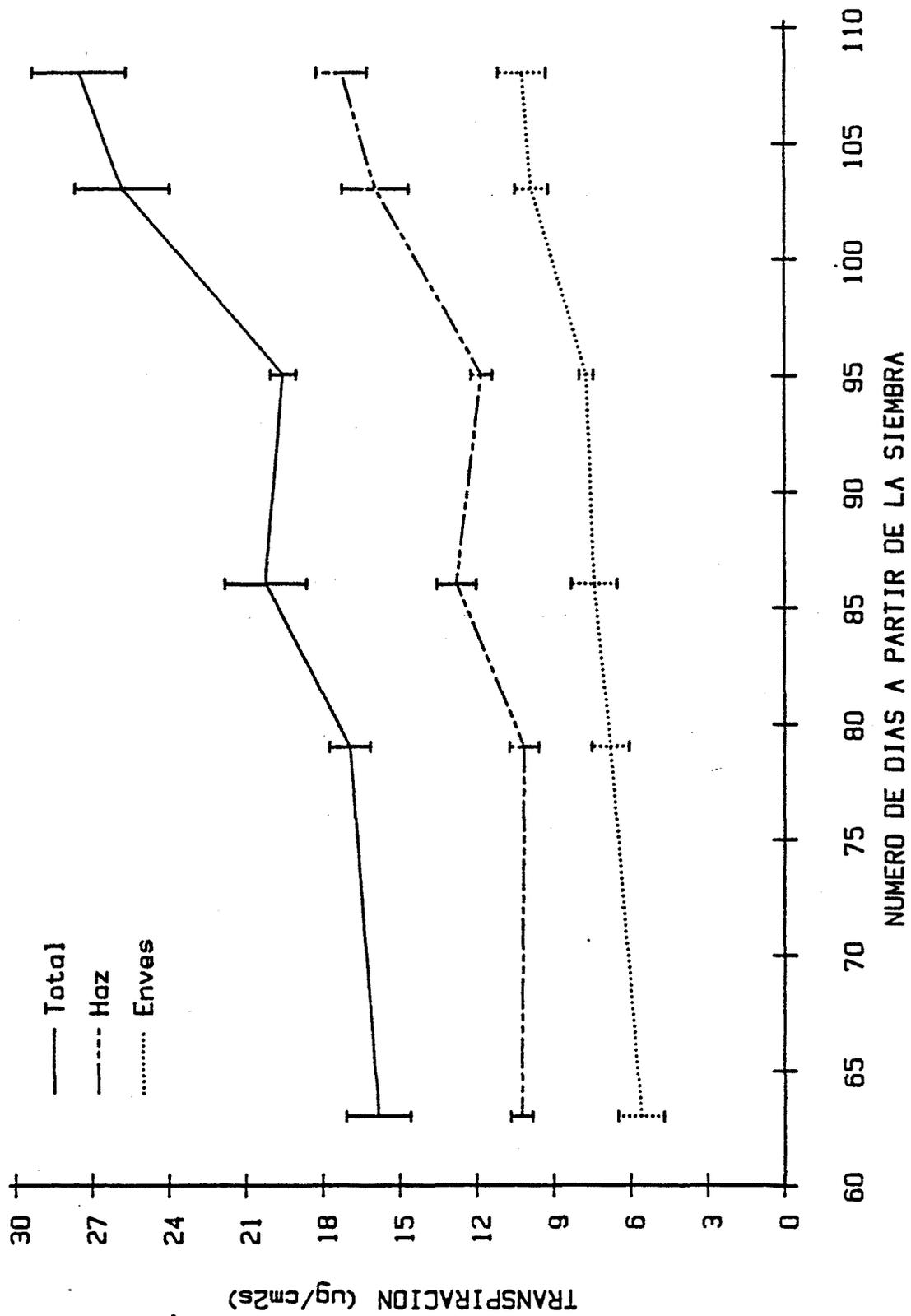


FIG. 1-12



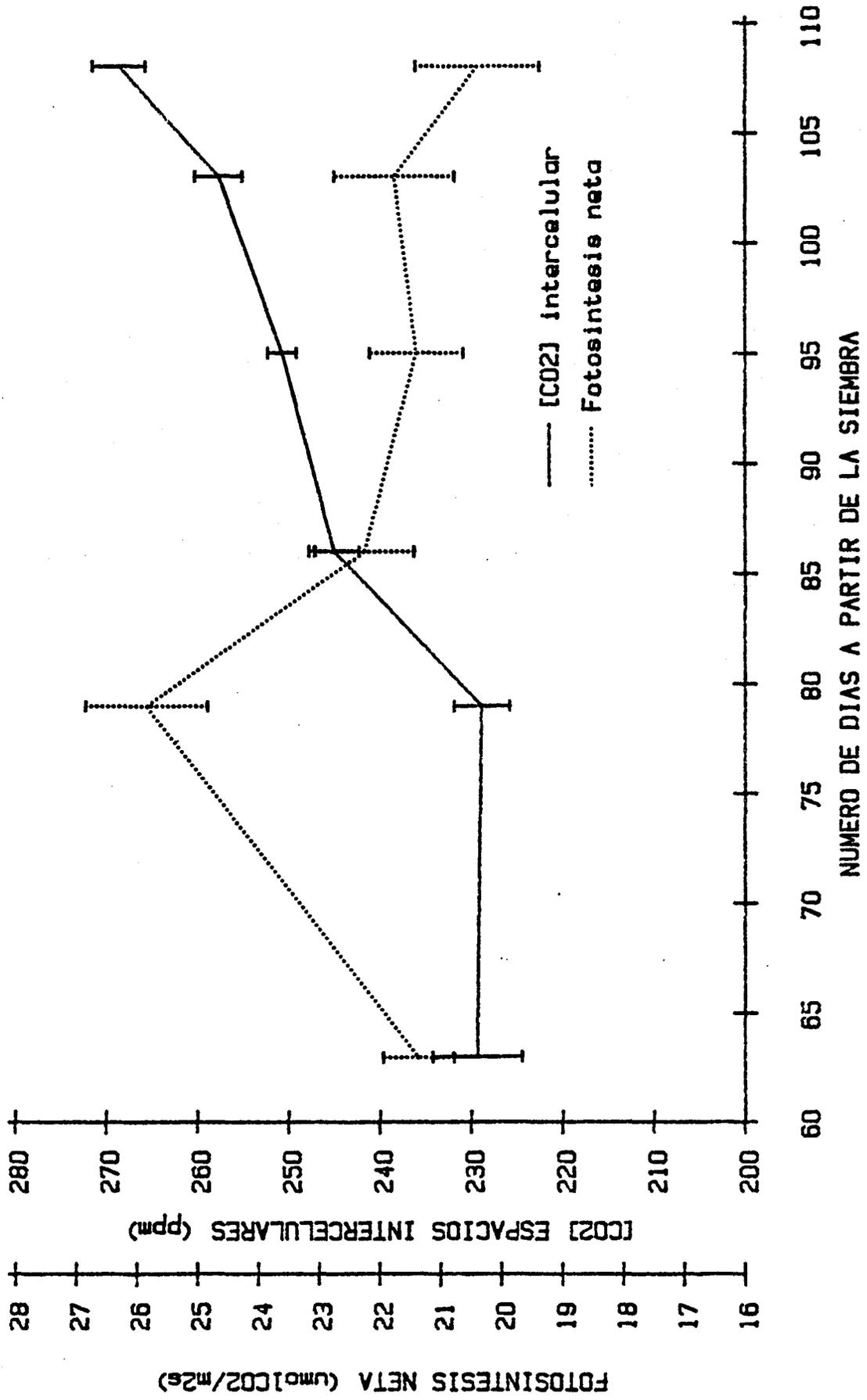


FIG. 1-14

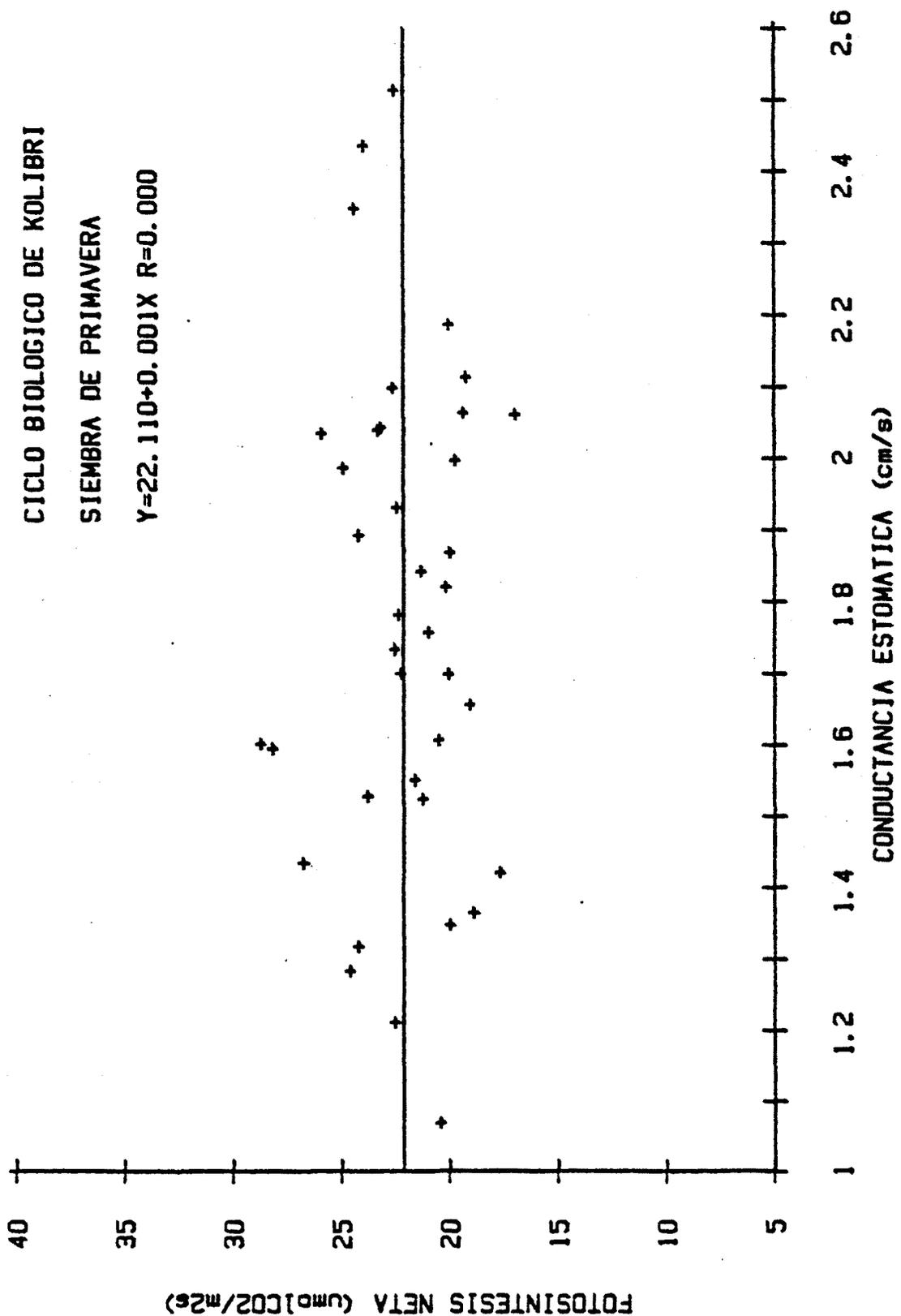


FIG. 1-15

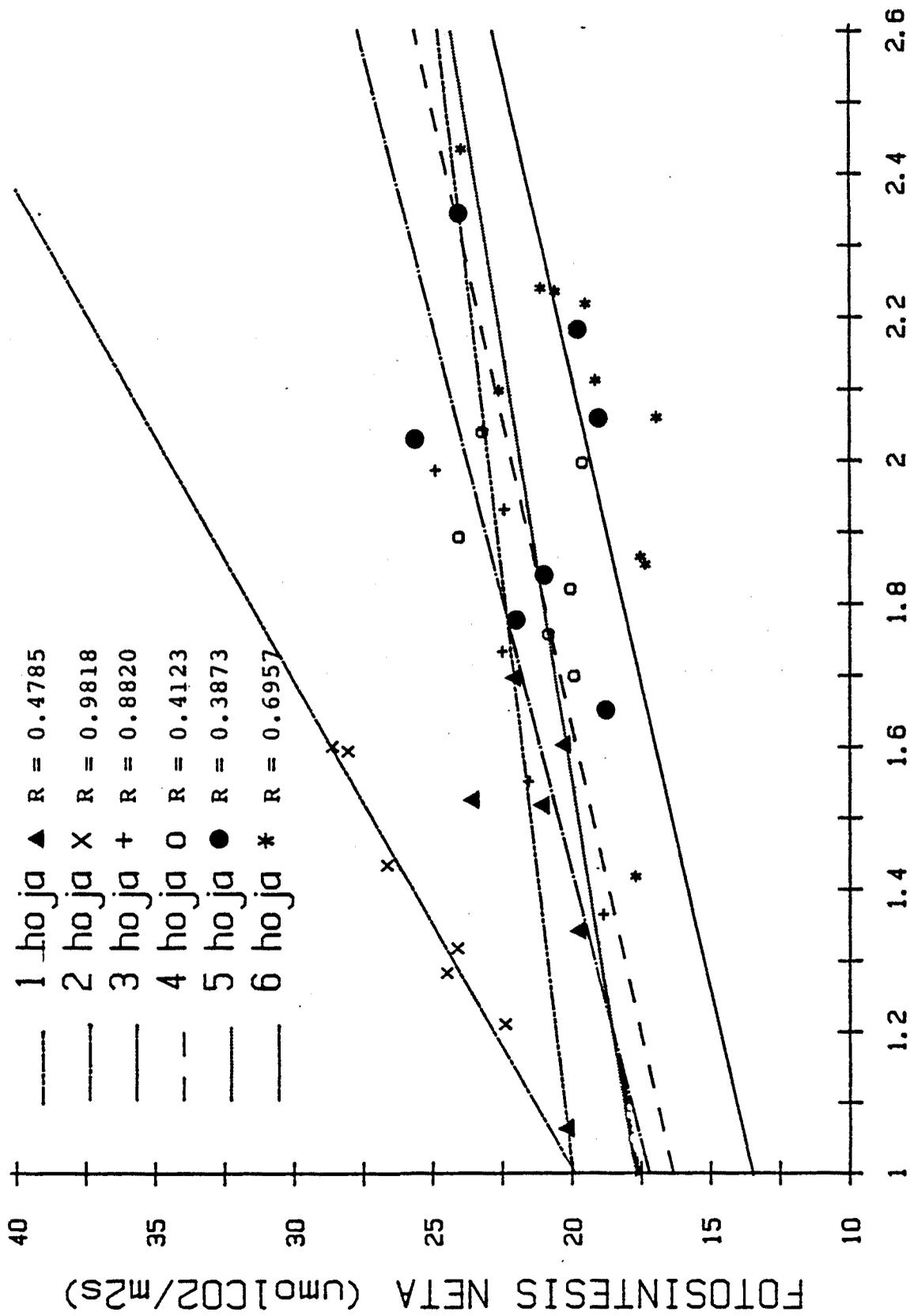


FIG. 1-16

CONDUCTANCIA ESTOMATICA (cm/s)

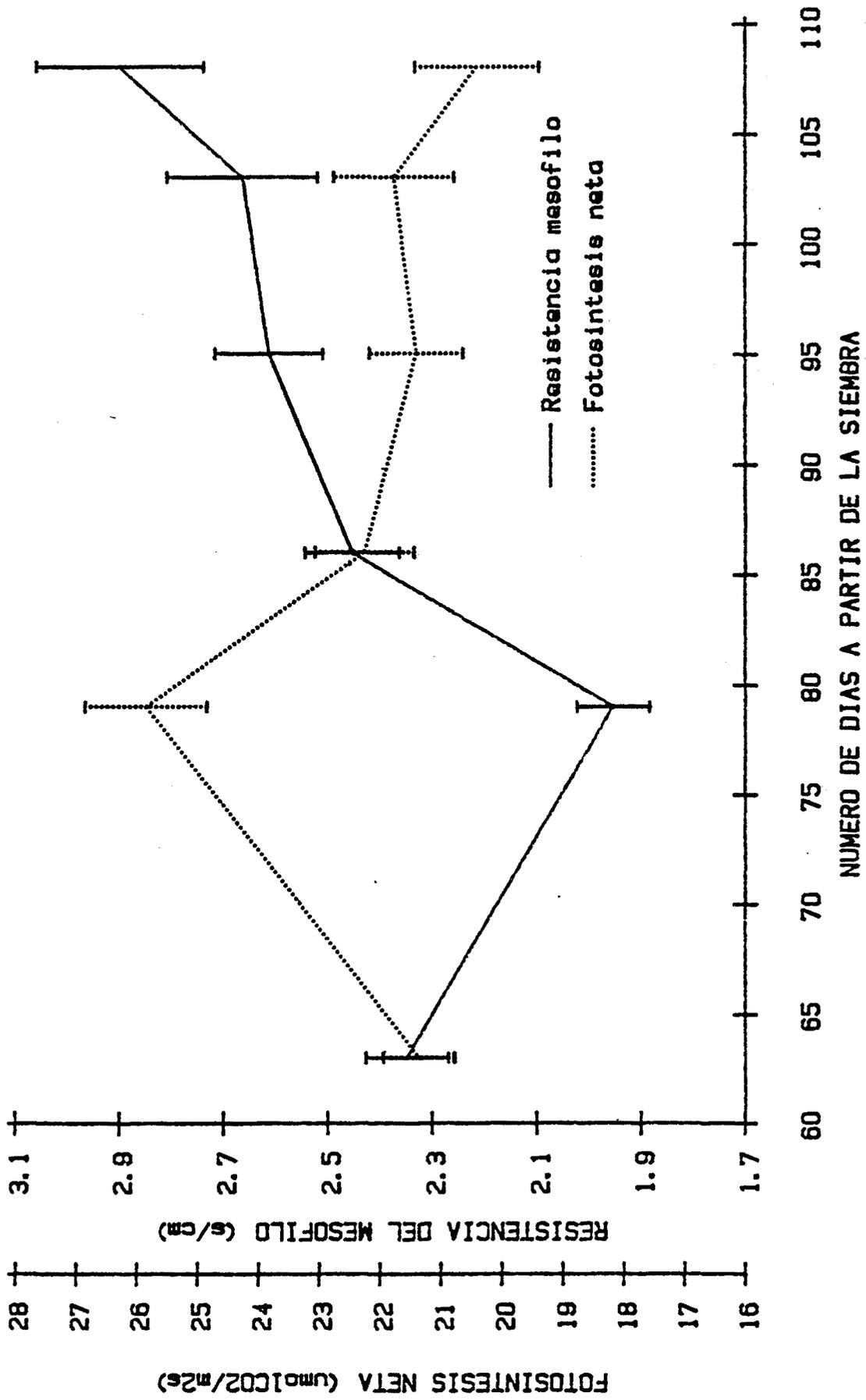


FIG. 1-17

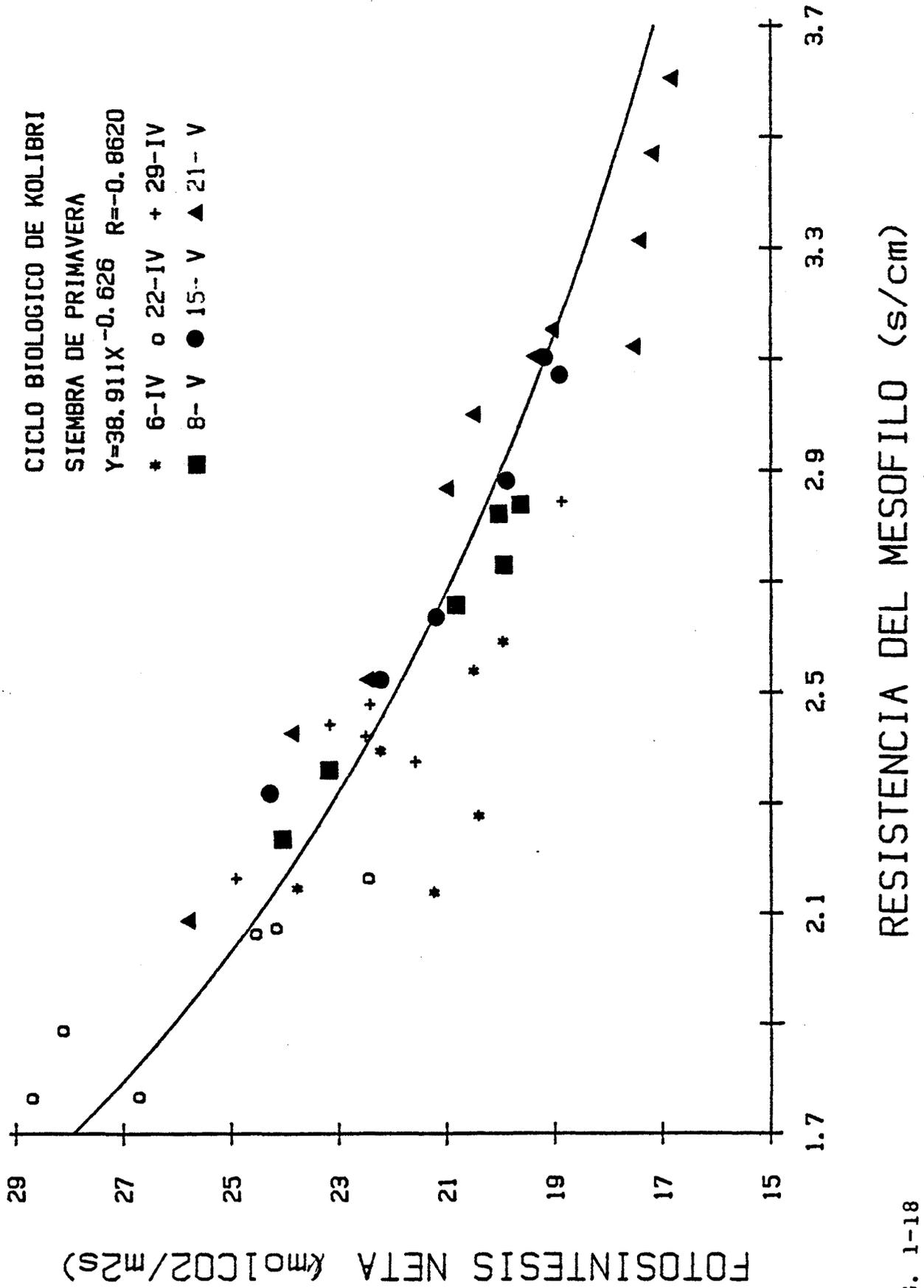


FIG. 1-18

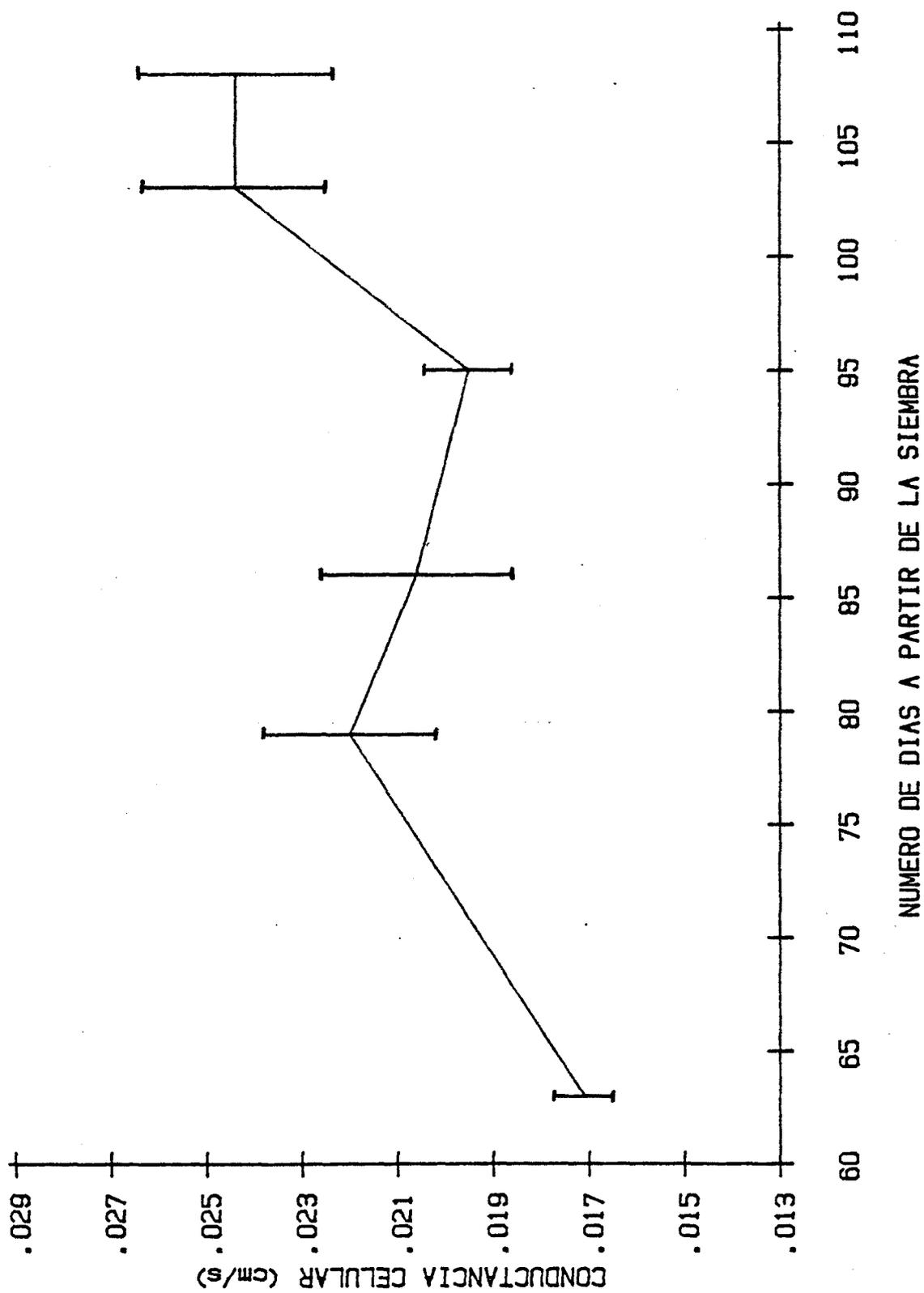


FIG. 1-19

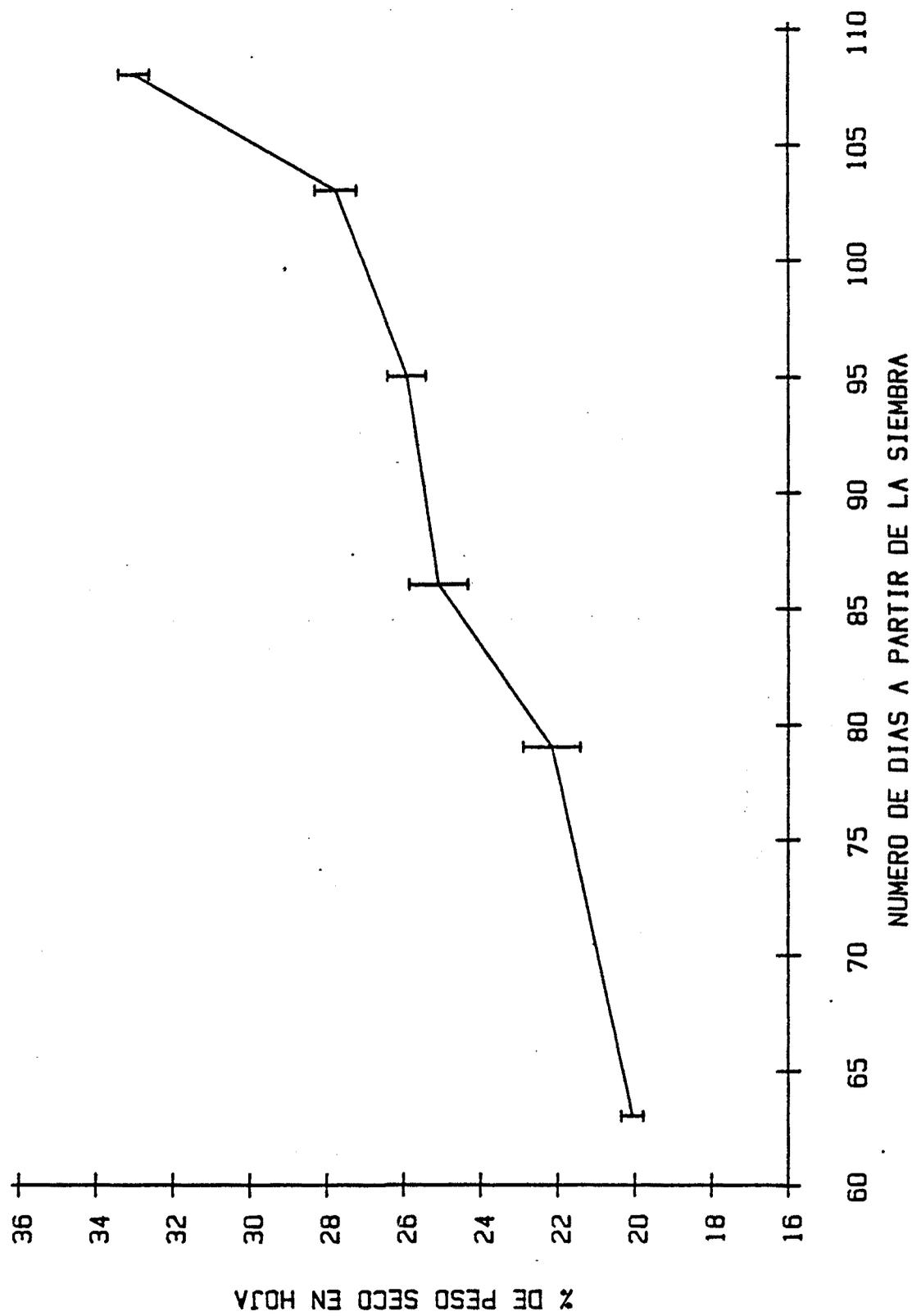


FIG. 1-20

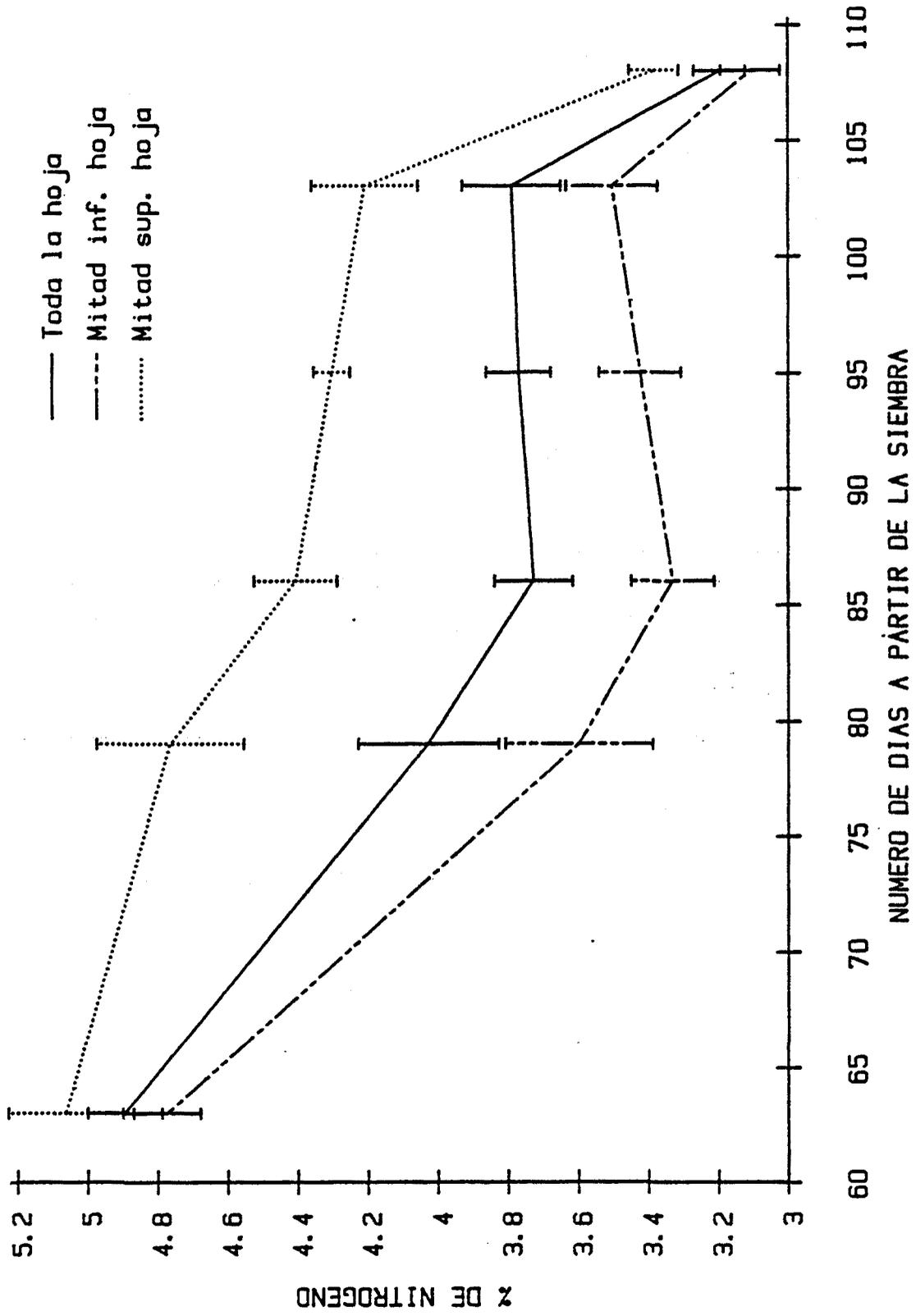


FIG. 1-21

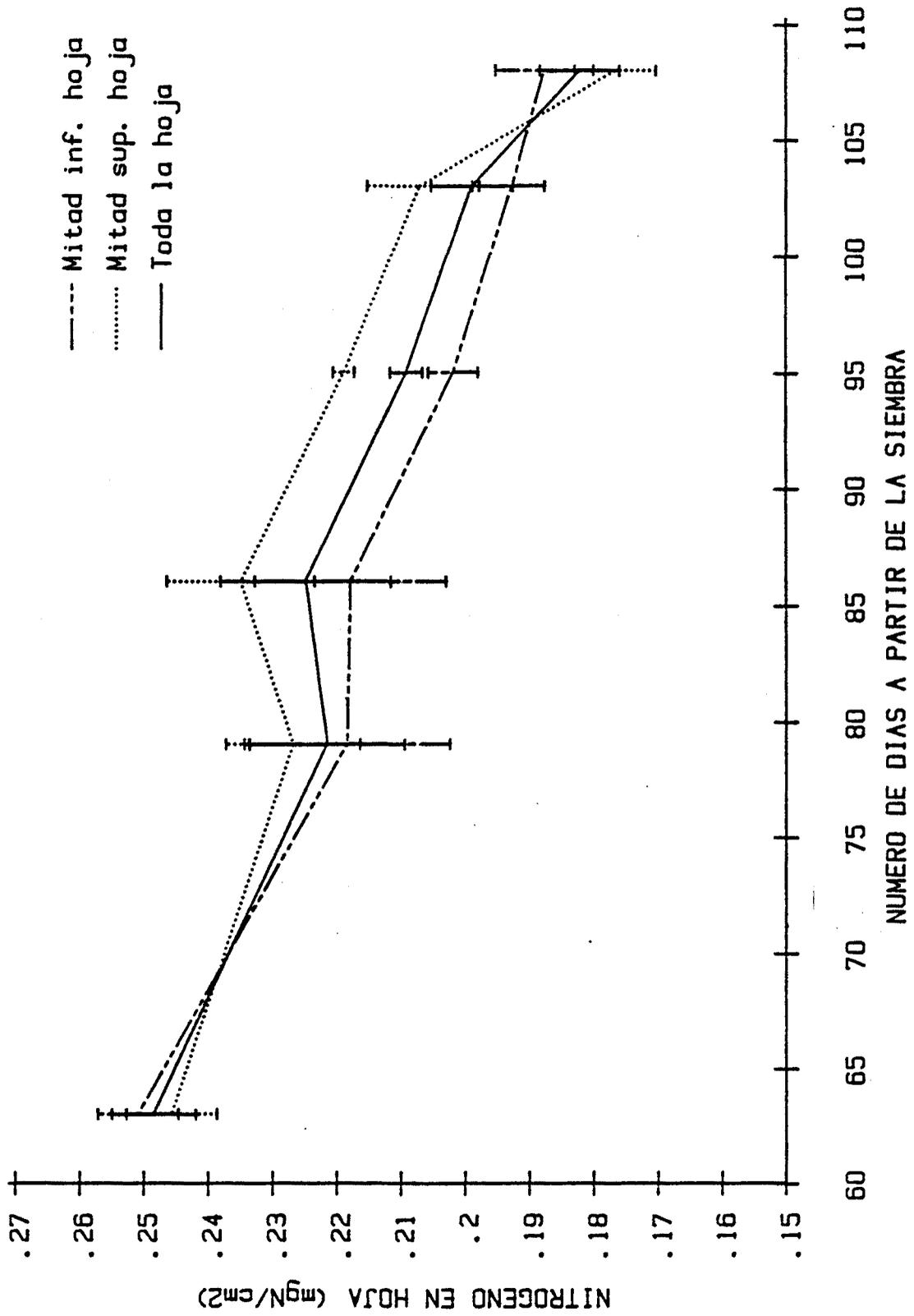


FIG. 1-22

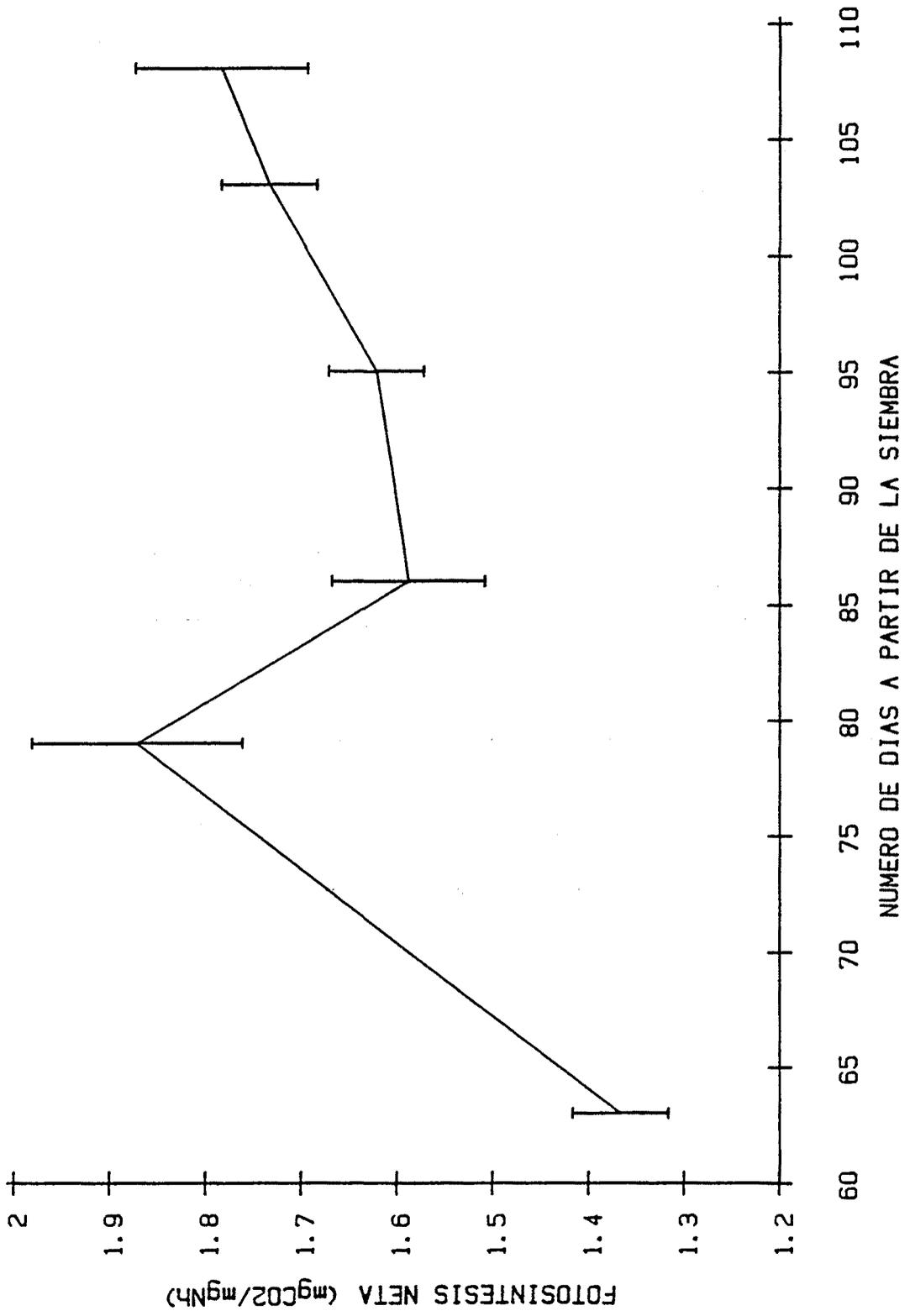


FIG. 1-22'

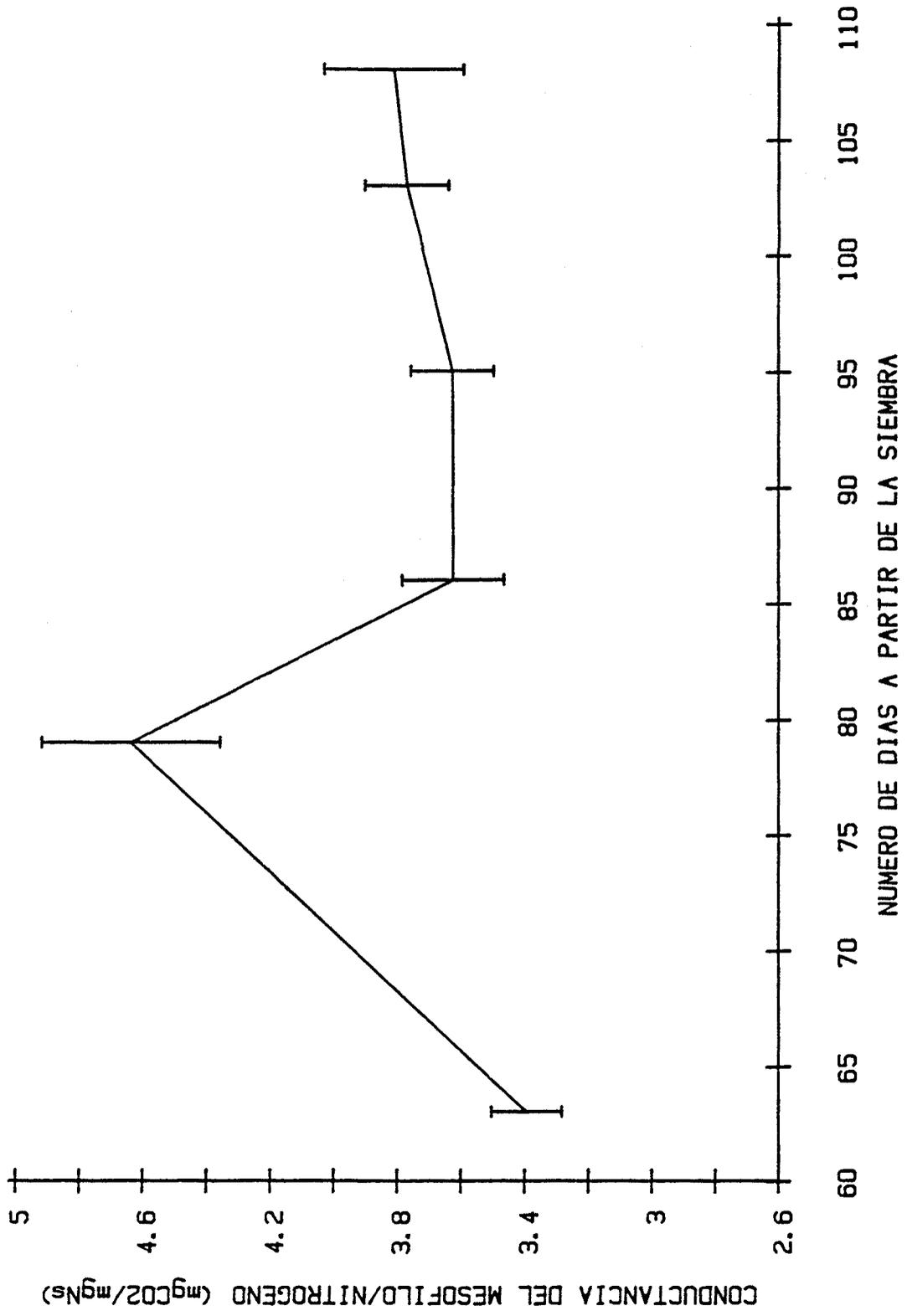


FIG. 1-22''

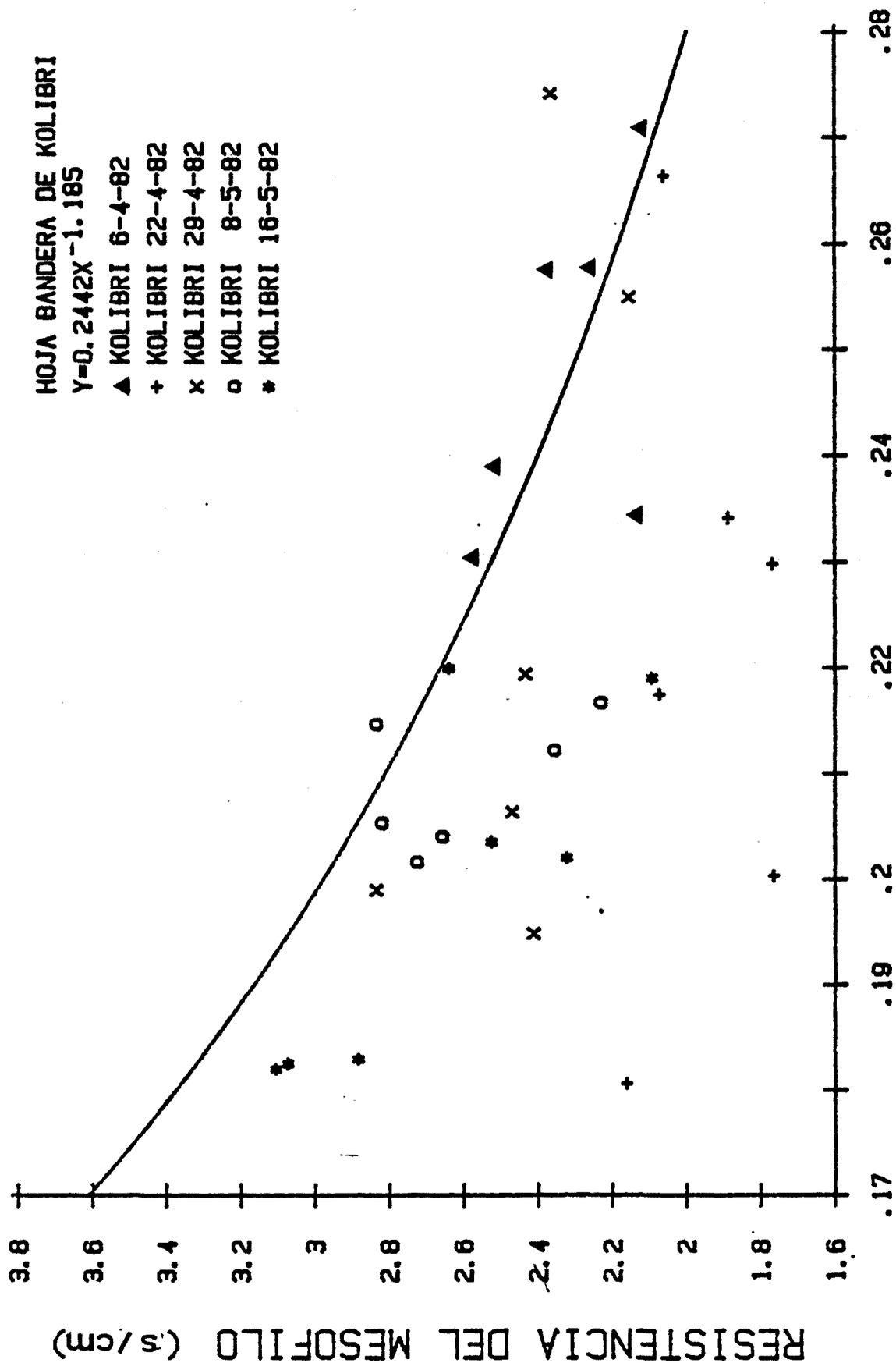


FIG. 1-23

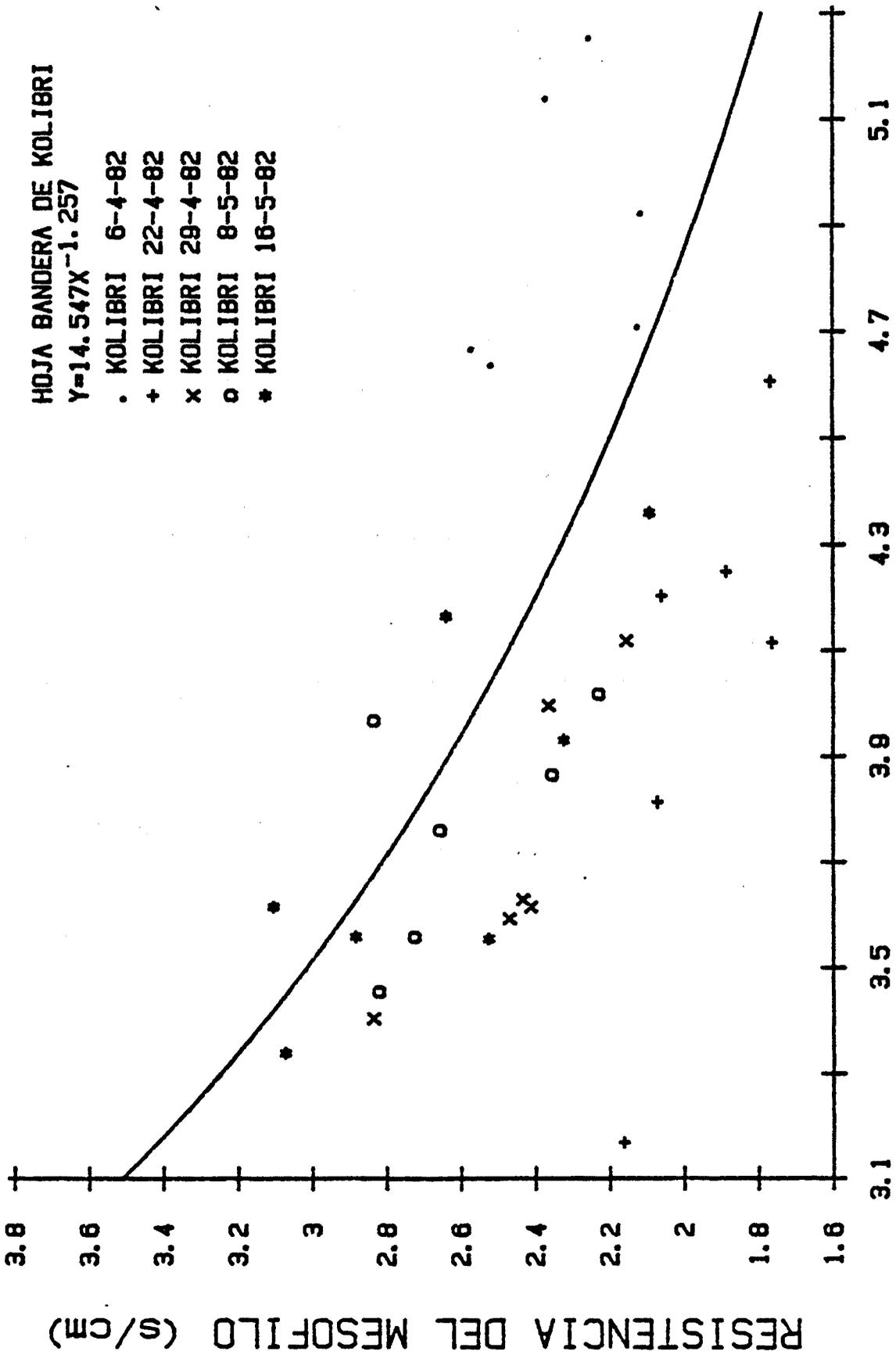


FIG. 1-24

% DE NITROGENO

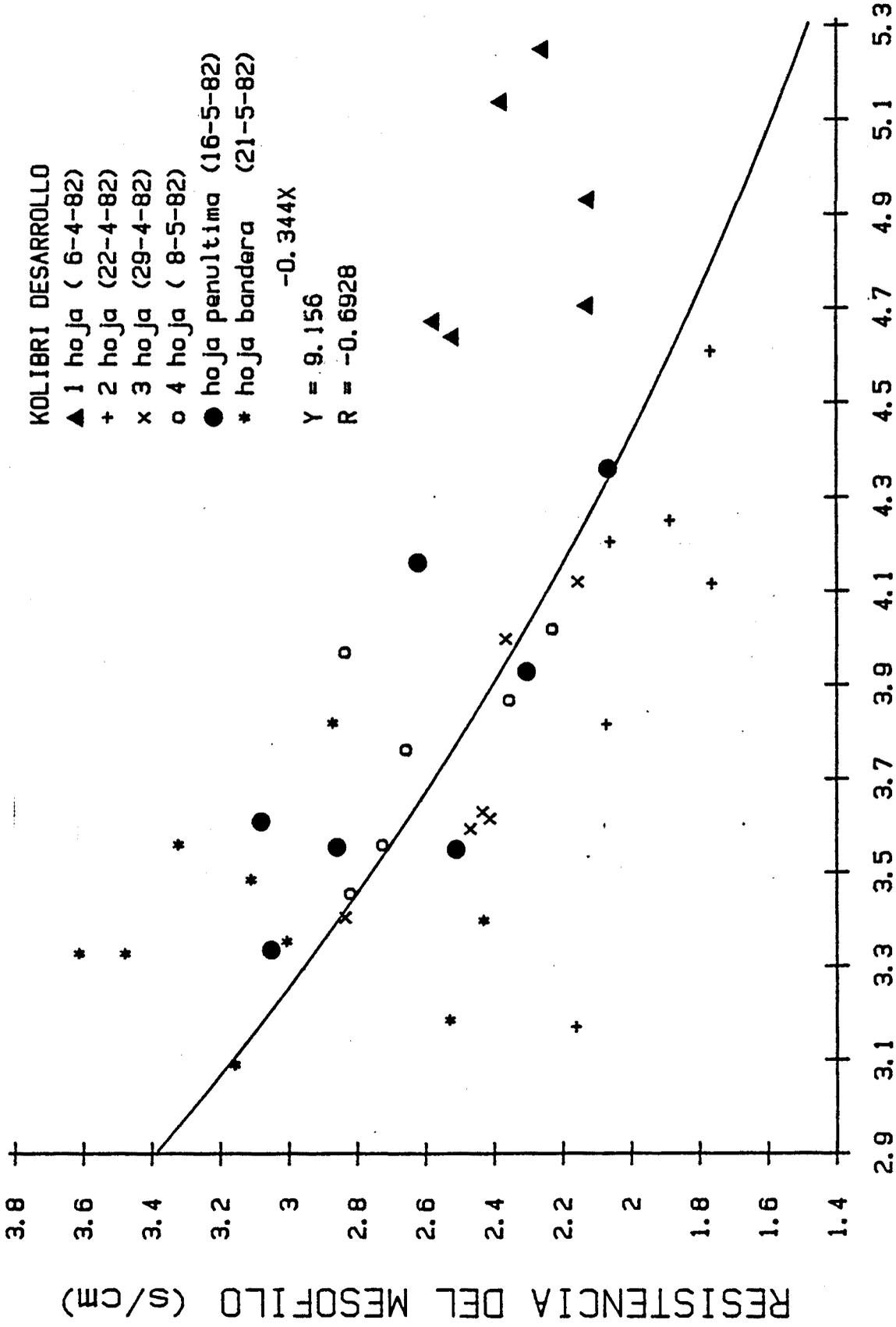


FIG. 1-25

% DE NITROGENO

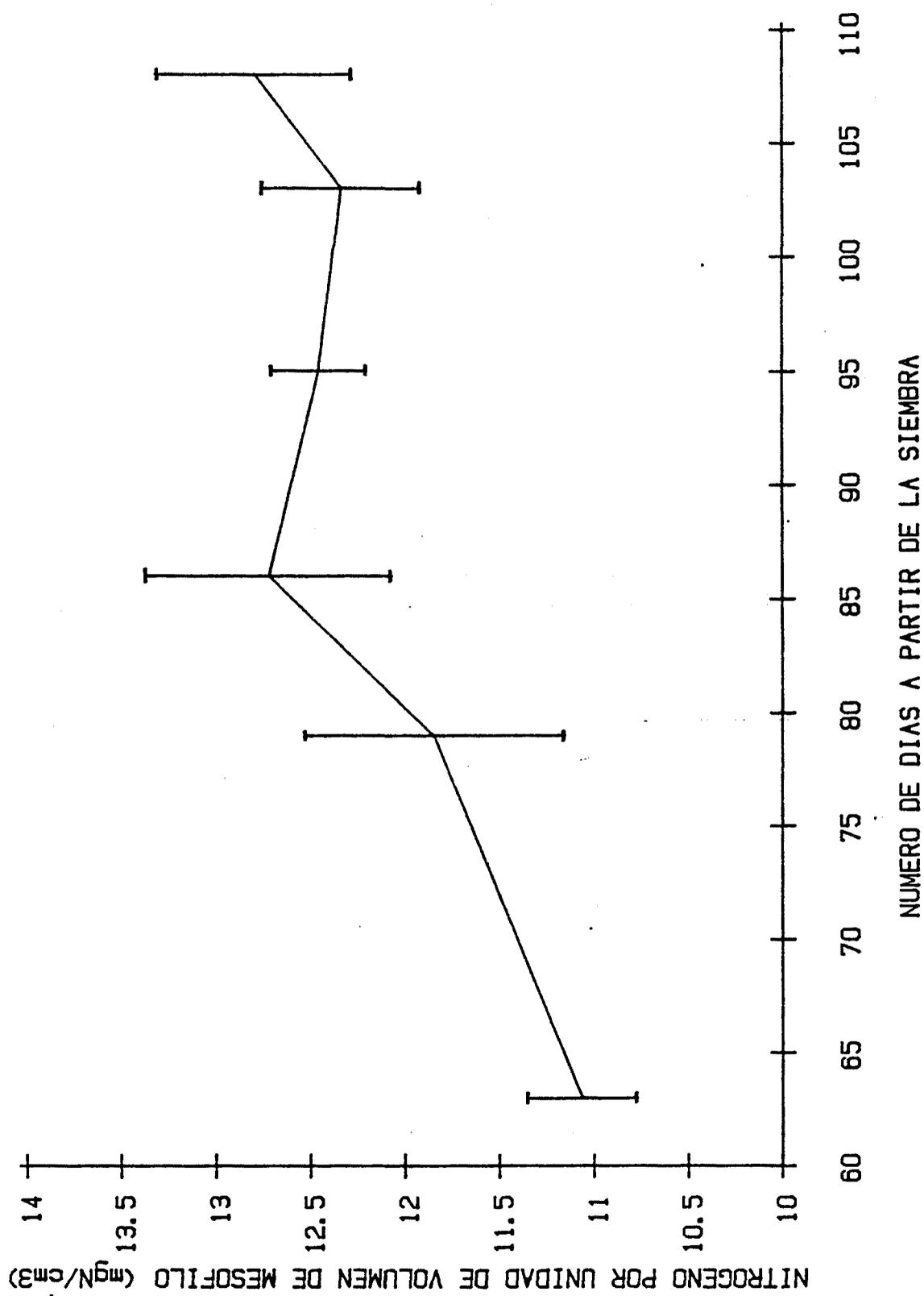


FIG. 1-26

