

Capítulo III

Transpiración

Francisco A Squeo¹ & Mario F León^{1,2}

INTRODUCCIÓN

La transpiración es un determinante primario del balance energético de la hoja y del estado hídrico de la planta. Este proceso comprende la evaporación del agua desde las células superficiales en el interior de los espacios intercelulares y su difusión fuera del tejido vegetal principalmente a través de los estomas y en menor medida a través de la cutícula y las lenticelas. Junto al intercambio de dióxido de carbono (CO₂), determina la eficiencia de uso del agua de una planta.

Las hojas pierden agua a través de sus estoma como una consecuencia de la actividad fotosintética de las células del mesófilo. Los estomas ejercen el mayor control de corto plazo en las relaciones hídricas de una planta debido a que controlan la salida de agua que ocurre en respuesta a un fuerte gradiente de diferencia de presión de vapor (DPV) entre el aire y la hoja. Tanto la absorción desde suelo por la raíces como la transpiración por las hojas, ejercen un control primario en la regulación de la conductancia estomática. El flujo de agua a través de la planta responde entonces a dos ambientes distintos. Por un lado, el ambiente aéreo a que está expuesta la hoja y que puede ser definido en términos de radiación, temperatura, diferencia de presión de vapor, contenido de CO₂ y condición de la capa límite. Por otro lado, las raíces comúnmente generan señales de estrés hídrico, las que sumadas a las señales en la conductividad hidráulica del xilema también controlan la pérdida de agua por la hoja (Sperry et al. 1998).

En este capítulo se describirá el proceso de transpiración, los métodos más usados para estimar la pérdida de agua por las hojas, la estructura celular de los estomas, el movimiento del agua a través de los estomas, los factores del medioambiente que gobiernan la apertura y cierre estomático.

MÉTODOS PARA ESTIMAR LA TRANSPIRACIÓN

Lisímetro

La transpiración de una planta puede ser estimada cubriendo el sustrato del macetero que la contiene de tal modo de impedir la pérdida de agua. Este enfoque lo desarrolló Stephen Hales hace dos siglos. La evaluación de la pérdida de peso de esta planta en una balanza analítica durante un intervalo de tiempo será atribuida a la transpiración de esta planta. Este sencillo procedimiento se

¹ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de La Serena, Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas e Instituto de Ecología y Biodiversidad, Casilla 599, La Serena, Chile. E-mail: f_squeo@userena.cl

² Programa de Magíster en Ciencias Biológicas mención Ecología de Zonas Áridas. E-mail: mleon.36@gmail.com

conoce como método del lisímetro y representa una aproximación de campo confiable para estudiar la evapotranspiración. Puesto que la cantidad de agua usada en el crecimiento de una planta es menos de 1% del peso seco final de ésta, entonces todo cambio de peso puede ser adscrito a la transpiración. No obstante, la mayor dificultad del método es la generalización de los resultados en condiciones naturales.

El método ha sido expandido a contenedores con un gran volumen de suelo en condiciones similares a un área de cultivo (Fig. 1). Este contenedor es colocado sobre una balanza o flotando sobre un recipiente mayor en el que se sigue el cambio de peso a través de un tubo establecido en la superficie del suelo. El nivel del líquido en el tubo es una medida del peso del lisímetro que depende sólo de la evaporación de la superficie del suelo y la transpiración de las plantas creciendo en el suelo. Una revisión más detallada sobre la aplicación y beneficios de lisímetros puede ser hallada en Aboukhaled et al. (1981) y Johnson et al. (2005).

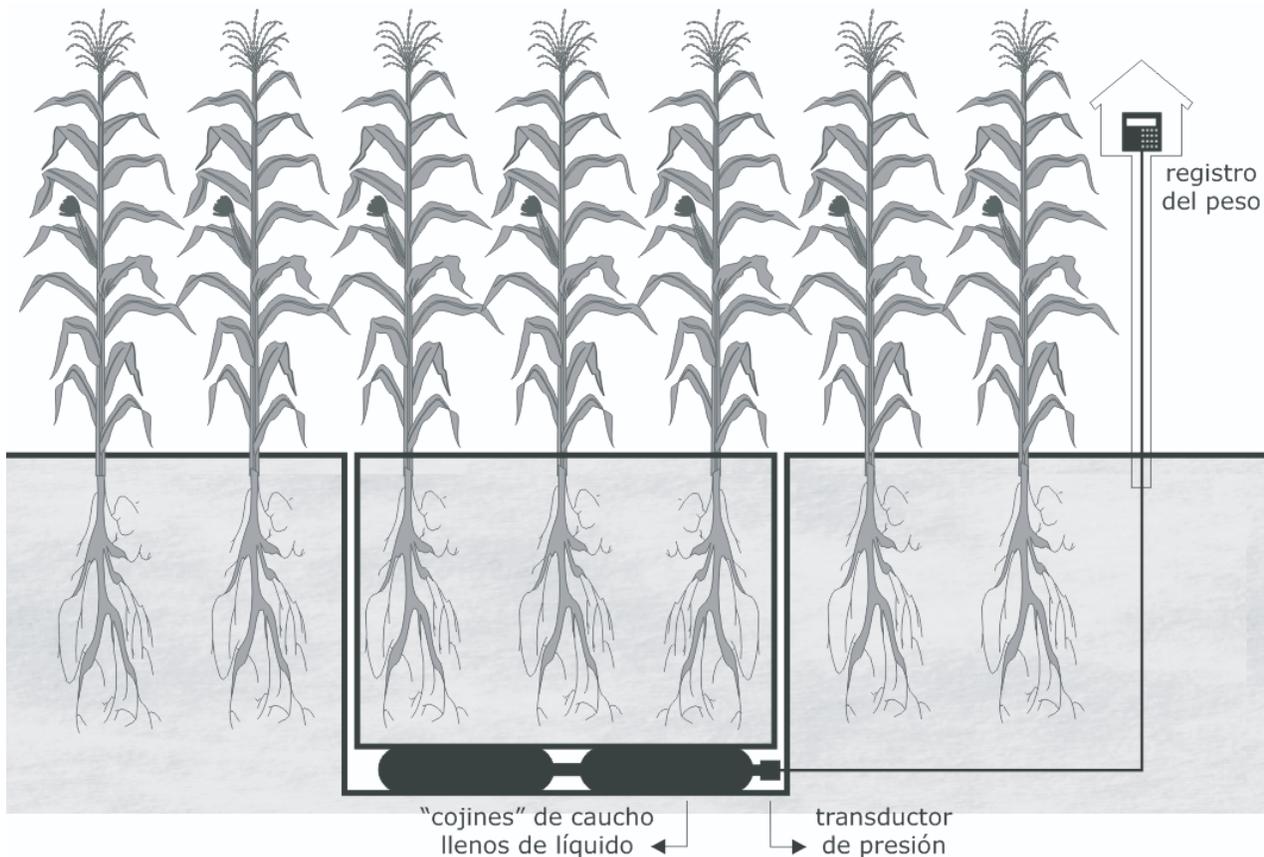


Fig. 1. Esquema de un lisímetro de terreno. Este consiste en un gran contenedor que está lleno de suelo, montado sobre un sistema para determinar el peso. El transductor de presión está conectado a un sistema de adquisición de datos.

Potómetro

Este método, usado en laboratorios de enseñanza, se basa en el supuesto de que la tasa de absorción de agua es casi igual a la tasa de transpiración. Es de utilidad para estudiar el efecto de los factores ambientales sobre la transpiración. Se utiliza en pedazos de ramas, tallos, hojas y otros, pero no en plantas completas. Un potómetro consiste en un depósito de agua, en el que se introduce una rama, que previamente se ha introducido en un tapón de goma, y donde todo debe quedar perfectamente sellado al cilindro. Se conecta el recipiente de vidrio a un tubo capilar, al que se le introduce una burbuja de aire que actúa como indicador de la utilización de agua por transpiración (Fig. 2).

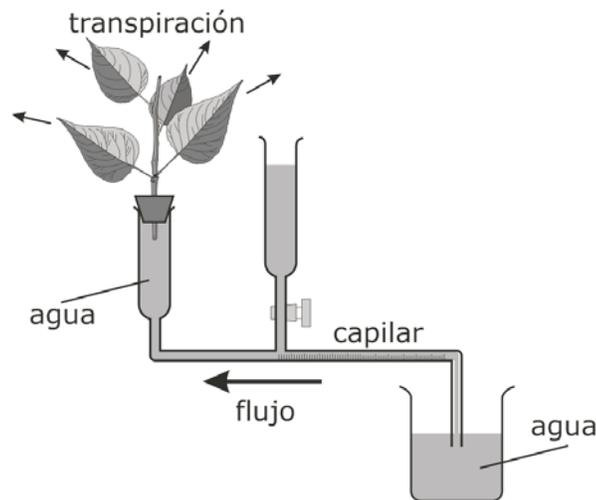


Fig. 2. Esquema de un potómetro. Al transpirar las hojas, la tensión se transmite a toda la columna de agua, lo que permite medir el flujo en el capilar horizontal.

Intercambio de gases

La medición del intercambio de gases fotosintéticos (i.e., cálculo simultáneo de la pérdida de agua y ganancia de CO_2) a nivel de hoja, planta o dosel, fue posible con la incorporación de los IRGA (analizador infrarrojo de gases) (Fig. 3). En general, estos sistemas evalúan el cambio en la densidad de vapor (y concentración de CO_2) dentro de una cámara producto del intercambio de gases realizado por una hoja. Entre los parámetros que se miden están la humedad relativa, la temperatura de la hoja y el aire (con una exactitud de $0,1^\circ\text{C}$).



Fig. 3. Sistema para la medición del intercambio de gases fotosintéticos. Modelo LI-6400 (Tomado de www.licor.com).

Hay dos tipos básicos de sistemas de intercambio de gases: cerrado y abierto. En el sistema cerrado, se mide cuánto tiempo demora en cambiar la concentración de CO_2 (y vapor de agua) dentro de la cámara producto de la actividad de la planta. El sistema abierto, la transpiración se estima midiendo el contenido de vapor de agua en el aire que entra y sale de la cámara que contiene la hoja. En este segundo caso se cuenta con medidores de flujo de alta resolución. El sistema cerrado utiliza un IRGA absoluto, mientras que el sistema abierto un IRGA diferencial. La información que estos métodos arrojan, permiten realizar estimaciones no sólo de las tasas transpiratoria sino también de conductancia estomática, tasas de fotosíntesis y concentración de CO_2 en la hoja.

En un sistema abierto (Fig. 4), la tasa de transpiración de la hoja es igual a la cantidad adicional de vapor de agua que sale de la cámara respecto a la que entra. El vapor de agua gracias a la transpiración de la hoja (E , en $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) está dado por:

$$E = \frac{u_s w_s - u_e w_e}{L}$$

donde, w_e y w_s (en mol mol^{-1}) son las fracciones de moles de vapor de agua (mol de vapor de agua por moles totales de todos los gases) a la entrada y salida de la cámara, respectivamente; L (en m^2) es el área foliar; y finalmente u_e y u_s (en mol s^{-1}) son las tasas de flujo molar (aire más el vapor de agua) que entra y sale de la cámara. Si los flujímetros están calibrados en unidades volumétricas o de masa, la tasa de flujo molar se obtiene aplicando la ley de gases ideales.

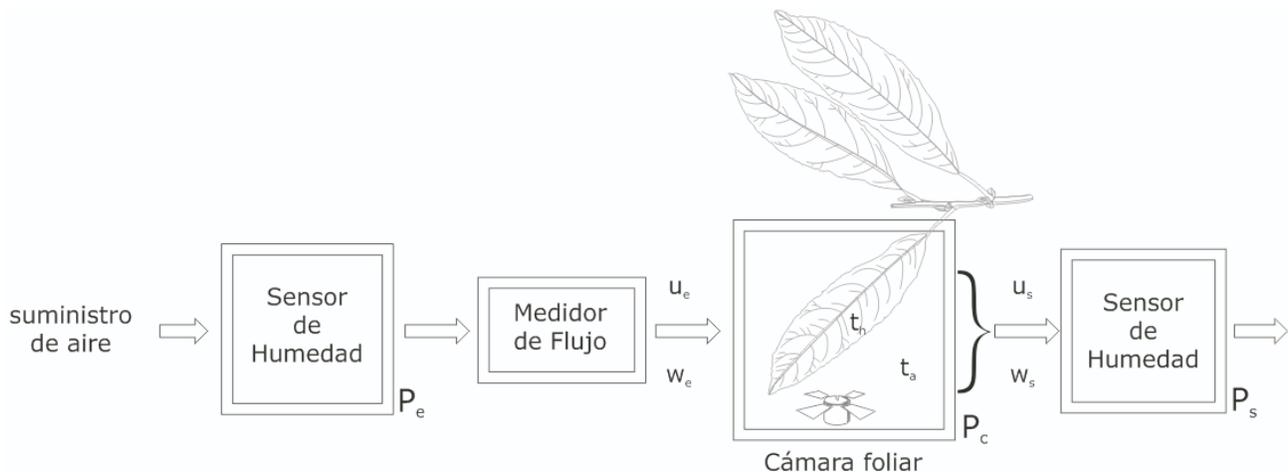


Fig. 4. Sistema de intercambio de gases abierto. Se puede medir la tasa de flujo de aire (en mol s^{-1}) a la entrada (u_e) y salida (u_s) de la cámara foliar, así como la fracción molar del vapor de agua que entra y sale de la cámara. También se debe medir la presión en los sensores de humedad (P_e , P_s) y en la cámara (P_c). En la cámara foliar se miden la temperatura de la hoja (t_h) y el aire (t_a). (Modificado de Percy et al. 1991).

Usando la ley de Dalton de presiones parciales, que indica que la fracción molar de un gas en una mezcla es igual a su presión parcial, w_e y w_s pueden ser calculadas midiendo la presión de vapor (v_w , en Pa), como:

$$w = \frac{v_w}{P}$$

donde P es la presión total del aire en el sensor de humedad. Por otro lado, la tasa de transpiración también puede ser descrita por la ecuación:

$$E = g (v_a - v_i)$$

donde g es la conductancia al vapor de agua; ($v_a - v_i$) es la diferencia de presión de vapor entre el aire (v_a) y la cavidad subestomática (v_i) en el interior de la hoja (DPV, Δv). Como ya se mencionó, el sistema permite calcular la humedad absoluta en el exterior de la hoja (ambiente = v_a), sin embargo, no se puede medir directamente el v_i . Un cambio de 0 a -2 MPa en el potencial hídrico de la hoja a 20°C sólo generará una disminución de la HR en la fase vapor de los espacios intercelulares (y cavidad subestomática) del 100% al 98,5%, por lo que normalmente se supone que v_i es aproximadamente la presión de vapor a saturación.

La tasa de transpiración así como la de fotosíntesis se suelen expresar en términos de superficie foliar: $\text{mmol H}_2\text{O}$ transpirada $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $\mu\text{mol de CO}_2$ fijado $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente. Nuevos accesorios

para este tipo de equipos permiten, además, medir en terreno indicadores de la fase clara de la fotosíntesis (ver Capítulo 8).

Flujo en el tallo

La transpiración también puede ser estimada en función de la cantidad de agua que fluye dentro del tallo usando un pulso de calor. Si se presume razonablemente que toda el agua que la planta transpira por el dosel debe primero pasar a través del tronco, entonces es posible inferir la transpiración a partir de conocer el flujo de savia por el tronco. Estos sensores de flujo de savia han tenido un notable desarrollo recientemente y existen algunas variantes metodológicas.

Método de disipación termal. Este método también conocido como método Granier (en honor a André Granier del INRA de Francia quien lo desarrolló en 1985), permite medir flujos en tallos de gran diámetro. Se basa en la comparación de la temperatura constante de un sensor calentador con la temperatura del sensor no calentado. Ambos sensores son implantados radialmente en el xilema de la planta. Al pasar la savia por el sensor calentador se incrementa la disipación de calor por convección. La reducción de la diferencia de temperatura entre el sensor calentador y el de referencia es proporcional a la tasa de flujo de savia.

Método del balance de calor. Este método permite medir flujos en tallos de pequeño diámetro, preferentemente menores a 25 mm.

Método de cociente de calor. Desarrollado en Australia por investigadores de la Universidad de Western Australia, ICRAF y CSIRO, admite medir flujos sumamente lentos, incluyendo el flujo inverso de savia, permitiendo entonces el monitoreo del mismo en tallos y raíces en un amplio rango de diferentes especies, tamaños y condiciones ambientales. Este sistema se compone de dos sensores de temperatura que se insertan radialmente en el xilema del tallo junto a un calentador (resistencia) colocado a igual distancia de estos sensores (Fig. 5). Se emite un pulso de calor de uno de los sensores hacia la corriente de flujo el que luego es detectado por el segundo sensor. El tiempo que se requiere para que el incremento en la temperatura llegue al segundo punto es indicativo de la velocidad con que fluye la savia. Para obtener la velocidad del pulso de calor se utiliza la ecuación:

$$Vp = \frac{K}{x} \cdot \ln \frac{\Delta T_1}{\Delta T_2}$$

donde, K es la difusividad térmica del xilema, x es la distancia entre el calentador y cada uno de los sensores (usualmente 6 mm), ΔT_1 y ΔT_2 son los aumentos de temperatura en los sensores ubicados corriente abajo y corriente arriba con respecto al calentador, respectivamente. Scholz et al. (2002) y Burgess et al. (2000) describen correcciones y cálculos para obtener el valor de K y calcular las velocidades de flujo.

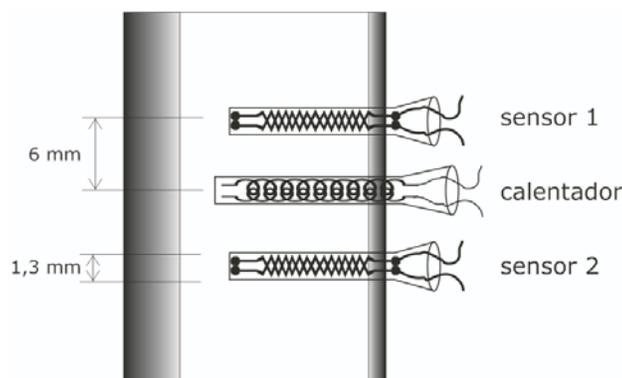


Fig. 5. Descripción de un sistema de pulso de calor. Esquema simplificado de los sensores y calentador insertados en una raíz o tallo (basado en Scholz et al. 2004).

Originalmente los sistemas de pulso de calor fueron desarrollados para medir flujo en tallos pero actualmente también se han utilizado para estimar el flujo de agua de las raíces (Scholz et al. 2002, 2004). Una revisión sobre los sistemas de pulsos de calor puede ser encontrada en Burgess et al. (2000).

EL APARATO ESTOMATAL

El aparato estomatal típico están conformado por dos células guardianas (o células oclusivas), un poro estomático formados por estas dos células; y las células subsidiarias (o accesorias) que se ubican junto a cada célula guardiana (Fig. 6). Las células guardianas de las dicotiledóneas frecuentemente tienen forma de riñón pero en gramíneas suelen ser elongadas. Los estomas están presentes en las hojas, los tallos, las flores y los frutos, pero no en la raíces aéreas. Cuando un estoma esta abierto, el poro estomático puede tener 3-12 μm de ancho y 10-30 μm o más de largo. Si los estomas están abiertos, el área del poro respecto a la superficie total de la hoja varía entre 0,4 y 2% (Kramer & Boyer 1995). Los estomas pueden estar presentes en ambas superficies de las hojas (hojas anfiestomáticas) o sólo en una superficie, usualmente la inferior (hojas hipostomáticas). Dentro de las especies con hojas anfiestomáticas, estas pueden tener igual número de estomas en ambas caras (p.e., *Alium cepa*), o mayor cantidad en el envés de la hoja. Sin embargo, hay algunas especies que poseen mayor número de estomas en el haz (p.e., *Prosopis chilensis*). La localización y tamaño de los estomas influye en la tasa de transpiración.

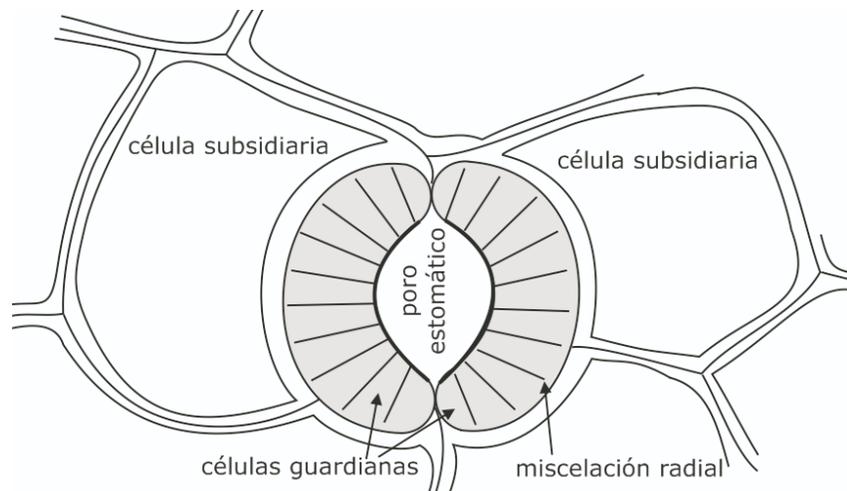


Fig. 6. Esquema de un aparato estomatal de una dicotiledónea. Se muestran las células guardianas con su miscelación radial.

El proceso de transpiración es conducido y regulado por los estomas. Dentro de la hoja, el agua líquida que se encuentra en la superficie de las células del mesófilo se evapora y difunde hacia los espacios intercelulares que existen en el parénquima (Fig. 7). Si los estomas están abiertos ($g > 0$), la diferencia de presión de vapor provoca la pérdida de vapor de agua hacia la atmósfera. Las moléculas de CO_2 sigue esta misma ruta pero con una dirección inversa, marcando la condición de simultaneidad del proceso de fotosíntesis y transpiración (Percy et al. 1989).

EFFECTOS DEL AMBIENTE SOBRE LOS ESTOMAS

Los cambios en el turgor de las células guardianas que conducen la apertura y cierre del estoma son dependiente de un número de factores medio ambientales que incluyen a la luz solar, concentración de CO_2 , humedad y temperatura. Cualquier teoría que pretenda explicar el funcionamiento de los estomas debe incluir la respuesta a estos factores ambientales.

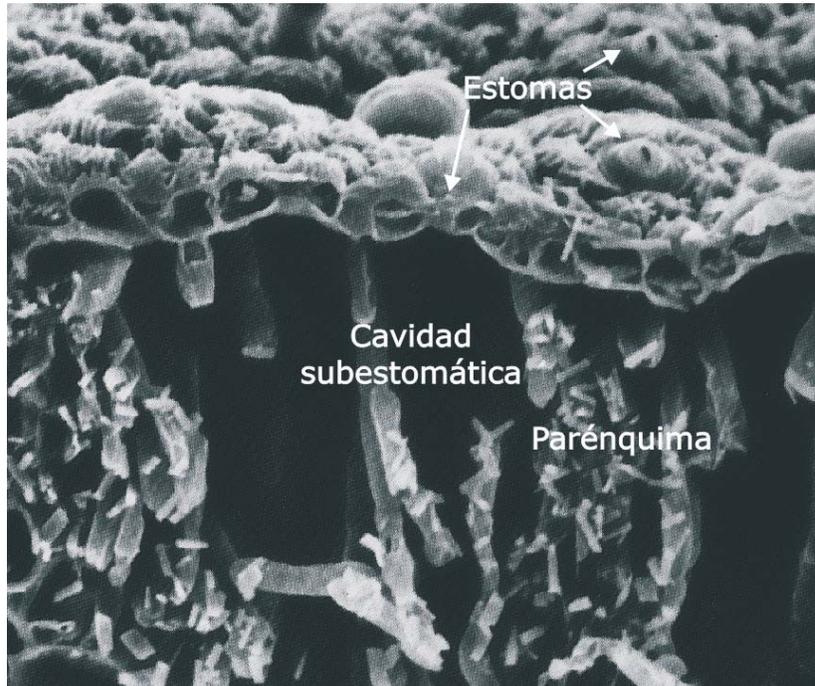


Fig. 7. Corte transversal de una hoja de *Haplopappus glutinosus*. En la epidermis se observan varios estomas. La cavidad subestomática se localiza por debajo de los estomas, dentro del tejido parenquimático (fotografía tomada de G. Montenegro, 1984).

El aspecto más característico de un estoma es su capacidad para abrirse y cerrarse regulando con esto la conductancia a los gases y con ello su intercambio. Generalmente, los estomas se abren con la luz al amanecer y se cierran con la oscuridad. Una planta típica en un día normal alcanza su máxima apertura estomática durante las horas de la mañana y hacia medio día (Fig. 8); sin embargo, hay plantas que producen una reducción de su conductividad a medio día, cuando se presentan los mayores valores de DPV. Plantas en suelos con un bajo potencial hídrico suelen abrir sus estomas sólo durante las primeras horas del día.

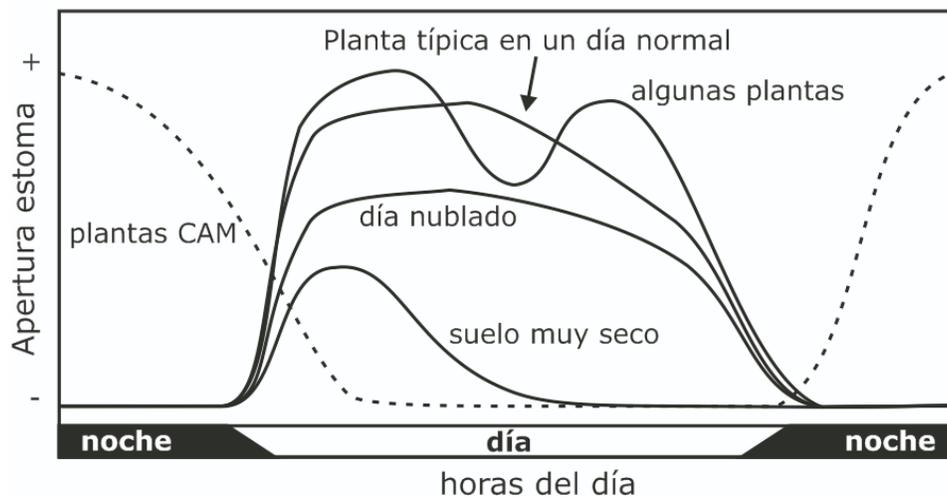


Fig. 8. Esquema que resume el comportamiento estomático a varias condiciones ambientales (Modificado de Salisbury & Ross 1994).

La excepción a este comportamiento típico lo exhiben las plantas con metabolismo ácido de las crasuláceas (Plantas CAM), cuyos estomas se mantienen cerrados durante el día y abiertos en el transcurso de la noche. Esta conducta reduce grandemente la pérdida de agua sin disminuir la

producción de materia seca debido a que la tasa de transpiración es baja en la noche.

El papel de la luz en la apertura de los estomas

Aunque usualmente la apertura de los estomas ocurre en presencia de luz no se ha podido precisar si esto es debido a un efecto directo de este factor o si ocurre porque la fotosíntesis disminuye la concentración de CO₂ interno (Kramer & Boyer 1995). Dos fotorreceptores se creen podrían estar involucrados uno en el rojo y rojo lejano y el otro en el azul y ultravioleta. Un experimento clave realizado por Sharkey y Raschke (1981) demostró que a niveles bajos de radiación, la concentración de CO₂ sería el principal factor regulador de la apertura estomática; a niveles elevados de radiación, la respuesta directa a la luz puede sobre compensar el requerimiento de CO₂ para la fotosíntesis y provocar un aumento en la concentración de CO₂ intracelular. Las longitudes de onda de la luz más efectivas para causar la apertura estomática están en el rango del azul y el rojo, con poco efecto en el verde. La luz azul (longitud de onda entre 430 y 460 nm) fue cerca de 10 veces más eficaz en provocar la apertura estomática en comparación a la luz roja (630 a 680 nm). Ambas longitudes de onda son también las más eficaces en la fotosíntesis. Sin embargo, al agregar inhibidores de la fotosíntesis sólo el efecto de la luz roja desaparece. En el caso de la luz azul, ésta contribuiría parcialmente a través de la fotosíntesis, pero también tiene un efecto directo en determinar la absorción de iones K⁺ por parte de las células guardianas, lo que forma parte del mecanismo de apertura estomática (ver más adelante).

Dióxido de carbono

La apertura de estomas en muchas plantas es inversamente proporcional a la concentración de CO₂ interno, tanto en condiciones de luz y oscuridad. El incremento de CO₂ a nivel intercelular o de medioambiente causa el cierre; mientras que su disminución induce la apertura de los estomas. Aun hay controversia en cómo los estomas son capaces de detectar la concentración de CO₂. Las células guardianas son las únicas células de la epidermis que poseen cloroplastos activos, y por lo tanto pueden realizar fotosíntesis. Algunos autores sostienen que la fotosíntesis en estas células estaría involucrada en el mecanismo de detección del CO₂. Sin embargo, los estomas son también sensibles en oscuridad, cuando no hay fotosíntesis.

Temperatura y viento

Las temperaturas elevadas (sobre 30°C) por lo general provocan el cierre estomático. Esto puede deberse a un efecto indirecto del estrés hídrico, o a un aumento en la tasa de respiración que puede provocar un incremento en el CO₂ al interior de la hoja. Sin embargo, en algunas especies las temperaturas elevadas provocan la apertura de los estomas. Esta apertura conduce a un aumento de la transpiración, lo que a su vez resulta en la reducción de la temperatura de la hoja. Cuando la hoja esta expuesta a viento, y con ello a una reducción de la capa límite, los estomas pueden cerrarse en respuesta a estrés hídrico. En consecuencia, el potencial hídrico de la hoja tiene un importante efecto sobre la apertura y cierre estomático. A medida que el potencial hídrico disminuye, los estomas se cierran. Este efecto puede sobrepasar al efecto de apertura explicado por bajo CO₂ y alta radiación.

Nutrición mineral

Parece haber cierta incerteza del rol modulador de la nutrición mineral en relación a la conducta estomática. La deficiencia de nitrógeno puede disminuir la conductividad hidráulica a casi la mitad, disminuyendo el potencial hídrico de las hojas de maravilla (*Helianthus annuus*) cuando ocurre la transpiración (Radin & Boyer 1982). También, la deficiencia de nitrógeno en algodón (*Gossypium histutum*) produce dos respuestas a nivel de los estomas dependiendo de la concentración de CO₂: primero, disminuye la conductancia estomática a concentraciones de CO₂ ambiental y segundo, incrementa la sensibilidad estomática cuando aquél se eleva (Radin & Ackerson 1981). También en algodón, se ha observado un efecto de fósforo sobre la conducta de los estomas, la que puede estar asociada a alteraciones en el balance entre ABA y citocininas (Radin 1984).

Polución del aire

Las respuestas de los estomas a los contaminantes del aire son complejas y varían entre especies, concentración, condiciones ambientales y edad (Robinson et al. 1998, Darrall 1989, McAinsh et al. 2002). En general, exposiciones de corto plazo al dióxido de azufre (SO_2) promueven apertura de estomas mientras que exposiciones de largo plazo inducen cierre parcial de estos órganos. En contraste, los efectos de óxido de nitrógeno (NO_x) son frecuentemente pequeñas o insignificantes. Los efectos del ozono y estrés oxidativo son igualmente complejos. Bajas exposiciones estimulan una reducción rápida en la apertura estomática mientras altas exposiciones pueden llevar a la inactivación de los estomas. En todas estas respuestas la homeostasis de calcio de las células guardianas y la maquinaria responsable del movimiento de los estomas son afectadas por estos contaminantes (McAinsh et al. 2002). Aún cuando el efecto sobre el control estomático puede ser pequeño por sí misma, puede traer grandes consecuencias en relación a la sobrevivencia de una planta durante un período de estrés (Robinson et al. 1998). El trabajo de Darrall (1989) aporta mucha información comprensiva respecto a los efectos de los contaminantes del aire sobre los procesos fisiológicos de las plantas.

Hongos

La toxina de *Helminthosporium maydis* (carbón de la hoja del maíz) provoca una inhibición rápida de la fotosíntesis en hojas de maíz. La acción de la toxina involucra una inhibición de la absorción activa de potasio por las células guardianas (Arntzen et al. 1973). Por otro lado, la pudrición radical causada por *Phytophthora cinnamomi* bajo condiciones de exceso de humedad afecta los parámetros fotosintéticos en palta (*Persea americana*) así como de transpiración y conductancia estomática (Ploetz & Shaffer 1987, 1988).

MECANISMO DE APERTURA Y CIERRE ESTOMÁTICO

La apertura del estoma requiere un incremento en el turgor de las células oclusivas mientras que el cierre requiere una disminución en el turgor (Fig. 9). La respuesta final de apertura estomática requiere además, tomar en cuenta la existencia de la micelación radial y de un mayor grosor de la pared en el lado cóncavo adyacente al poro (Fig. 6). La micelación radial consiste en un engrosamiento de la pared de las células guardianas, donde grupos de microfibrillas de celulosa están dispuestas en forma radial. Producto de estos engrosamientos diferenciales, un aumento de volumen de las células guardianas, provoca una expansión diferencial que es menor hacia el poro estomático, lo que resulta en su apertura.



Fig. 9. Microfotografía electrónica de un estoma abierto y uno cerrado de una hoja de *Vicia faba*. En el gráfico se observa la apertura estomática y el volumen celular en función del potencial de presión de las células guardianas (modificado de Lambert et al. 1998)

Iones potasio

El aumento de turgor en las células guardianas requiere de la entrada de agua, la que es explicada por una disminución del potencial osmótico dentro de la célula. Originalmente, se presumía que la

conversión reversible de azúcar a almidón determinaba la disminución de potencial osmótico de las células guardianas, pero los experimentos de Fischer & Hsiao (1968) y Fischer (1971) mostraron el papel de ión potasio (K^+) como mecanismo primario en la apertura estomática. Actualmente se reconoce que el transporte de potasio dentro y fuera de las células oclusivas es claramente el responsable de estos cambios del volumen (Fig. 10). La absorción de K^+ es acompañada en algunas especies por la absorción de aniones como el cloro (Cl^-), los cuales balancean la carga positiva de K^+ . También se ha demostrado que la salida de H^+ a través de una ATPasa genera el gradiente electro osmótico que determina la entrada de K^+ a las células guardianas. En un estoma abierto, el pH de las células guardianas puede ser 0,5 unidades menor que en un estoma cerrado. El cambio opuesto en el pH se ha observado en las células subsidiarias. Estos H^+ vendrían de ácidos orgánicos producidos de la degradación de almidón y/o fotosíntesis dentro de la células guardianas. En todo caso, se han observado incrementos en la concentración de K^+ en las células guardianas de hasta 0,5 M, suficientes para reducir el potencial osmótico en cerca de 2 MPa. Reafirmando esta idea, casi todos los factores ambientales asociados con la apertura y cierre estomático están relacionados con el movimiento de K^+ .

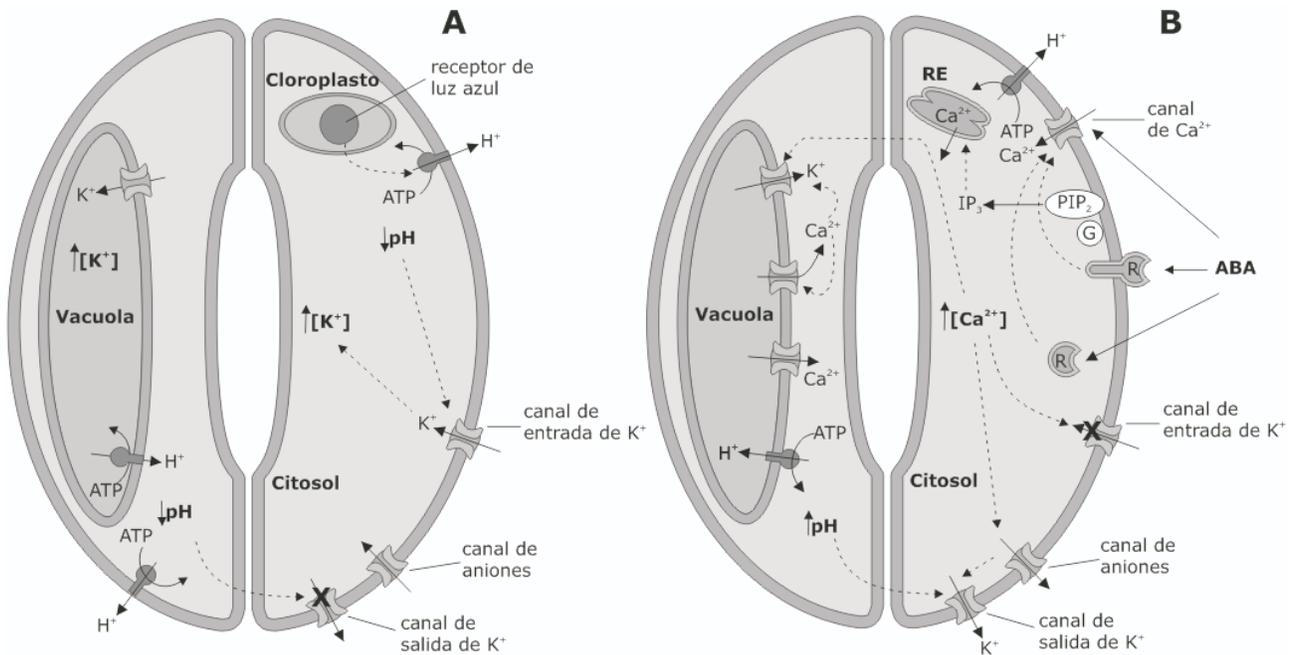


Fig. 10. Modelos de apertura y cierre estomático. (A) La entrada de iones K^+ al citosol (y vacuola) de las células guardianas ocurre en respuesta a un gradiente electro osmótico generado por bombas de protones (ATPasa) el cual es activado por un receptor de luz azul ubicado en los cloroplastos. El aumento en la concentración de K^+ baja el potencial osmótico y entra agua a las células guardianas provocando el aumento de turgor y la apertura del poro estomático. (B) Durante el cierre estomático, la señal de Ca^{2+} coordina la actividad de múltiples canales iónicos y las bombas de protones. En este modelo, la percepción del ABA por un receptor (R) provocaría un incremento de Ca^{2+} libre en el citosol a través de la entrada de Ca^{2+} externo o la liberación de Ca^{2+} desde las reservas internas. El aumento del Ca^{2+} citosólico promueve la apertura de los canales de aniones y de salida de K^+ e inhibe los canales de entrada de K^+ . Mientras más iones K^+ (y sus aniones acompañantes) dejen el citosol y menos entren, el agua sale de las células guardianas y éstas pierden turgor resultando en el cierre del poro estomático. (A. basado en Hetherington & Woodward 2003; B. modificado de Buchanan et al. 2000).

El efecto del ácido abscísico (ABA)

Hay fuerte evidencia de que ABA juega un papel en la regulación de la conducta estomática y del intercambio de gases de plantas en condiciones de limitación de agua. En la actualidad se reconoce el papel de la raíces como sensores de estrés hídrico, y al ABA como un mensajero producido por las

raíces que viaja por la corriente transpiratoria hacia las hojas donde causa el efecto de cierre estomático. Resultados interesantes se obtienen al realizar un experimento en que se dividen las raíces en dos partes. A una de las partes se le proporciona agua en abundancia o se aplica presión, de manera que las hojas quedan con potenciales hídricos cercanos a cero. Si la otra parte del sistema radicular es expuesta a déficit hídrico, ésta produce una señal que provoca el cierre estomático. La señal puede incluir la reducción de amino-ácidos, iones y citocininas, pero la señal más importante es el aumento en la concentración de ABA. En su acción en la células guardianas, ABA estimularía la acumulación de calcio en el citosol como un segundo mensajero, el que a su vez inhibiría el canal de entrada de K^+ . (Fig. 10).

La regulación de ABA involucraría tanto transporte a larga distancia y modulación de su concentración en las células guardianas (Wilkinson & Davies 2002). Por lo tanto se ha sugerido que la presencia de ABA en el xilema es necesario para regular la conductancia de la hoja bajo condiciones de un moderado estrés (Hartung et al. 2002). Cambios en el pH del xilema determinarían el acceso que tiene ABA a los sitios de acción de las células guardianas (Davies et al. 2002).

El papel del ABA como mensajero de estrés hídrico producido por las raíces y que induce el cierre estomático en las hojas esta relativamente dilucidado. Sin embargo, cuando el estrés hídrico se desarrolla con rapidez (por ejemplo, cuando se desprende una hoja y se expone a un aire muy seco), los estomas se cierran antes de que el ABA comience a acumularse en el tejido foliar. Para explicación a este cierre estomático, se ha propuesto que se produciría una rápida evaporación desde las células guardianas, lo que reduciría su volumen celular y resultaría en la pérdida de turgor. Por otro lado, el ABA en las células guardianas podría aumentar localmente debido al transporte desde otros compartimentos. En la hoja pueden haber tres fuentes de ABA: el citosol, donde se sintetizaría; los cloroplastos, donde se acumula; y las paredes celulares. Puesto que el ABA de las células guardianas representa sólo el 0,15% del ABA total de la hoja, es muy difícil detectar estos cambios.

Por último, las citocininas, un regulador del crecimiento que tiene entre sus funciones estimular las divisiones celulares, también provoca la apertura estomática. El mecanismo aún esta bajo estudio.

Fotosíntesis en las células oclusivas

El cloroplasto de la célula guardiana es el sitio de percepción de luz azul y radiación fotosintéticamente activa y de al menos uno de los mecanismos sensitivos del CO_2 en la célula guardiana. El cloroplasto de la célula guardiana presenta una composición normal de pigmentos y fotosistemas I y II funcionales, aunque exhibe una reducida red de tilacoides y sólo una fracción del contenido de clorofila de los cloroplastos del mesófilo.

No obstante, la fotosíntesis de células oclusivas ha sido motivo de controversia entre biólogos, principalmente por su capacidad para fijar carbono fotosintético (i.e., revisar Gotow et al. 1988, Vaughn 1987) y como mecanismo osmorregulatorio que median sobre los movimientos estomáticos (i.e., Talbott & Zeiger 1996, 1998). La falta de consenso, según Zeiger et al. (2002), es explicada por la inusual complejidad y plasticidad del cloroplasto de las células guardianas más que a la falta de datos fidedignos. Una mejor relación entre disciplinas clásicas (i.e., fisiología, bioquímica o ecología) y otras en rápido desarrollo (i.e., biología molecular, manipulación genética) deberían mejorar la comprensión de esta controversia en las células guardianas. Una revisión reciente de Hethering & Woodward (2003) propone que los estomas tienen el comportamiento de una red de sistemas de control, con muchos nodos interconectados, algunos de los cuales son cruciales. Las propiedades del control de la apertura y cierre de los estomas están más relacionados con la misma red más que con sus partes constituyentes.

INTERACCIÓN FOTOSÍNTESIS - TRANSPIRACIÓN

En el intercambio de gases en los estomas se produce un compromiso entre la necesidad de capturar CO₂ para la fotosíntesis y evitar la pérdida excesiva de agua. La mayoría de los factores que hemos discutido parecen apuntar a la existencia de dos ciclos de retroalimentación (Fig. 10). Por un lado, cuando disminuye el CO₂ en los espacios intercelulares, y por consiguiente en las células oclusivas, los iones K⁺ son transportados hacia estas células bajando el potencial osmótico. Al entrar agua a las células guardianas, los estomas se abren permitiendo la difusión de CO₂. Este efecto, sumado al efecto directo de la luz azul, permite que se realice la fotosíntesis. Por otro lado, si se presenta estrés hídrico, ABA producido primariamente por las raíces se acumula en la hoja y se produce el cierre estomático. Ambos ciclos de retroalimentación interactúan: el grado de respuesta a la concentración de CO₂ depende de la concentración de ABA y viceversa.

BENEFICIOS DE LA TRANSPIRACIÓN

Transporte de minerales

La transpiración puede ayudar a la absorción de un mineral desde el suelo y transportarlo dentro de la planta. Los minerales absorbidos por las raíces se mueven en dirección del flujo transpiracional a través del xilema. En condiciones de alta transpiración, se producen condiciones de flujo de masa dentro del xilema. Sin embargo, la planta puede redistribuir algunos minerales a través del floema desde los órganos de asimilación hasta los órganos sumideros, otros sólo pueden ser movilizados por el xilema. Por ejemplo, el estudio de Behboudian et al. (1994) mostró en dos variedades de manzanas que la exposición de las raíces a temperaturas sobre 30°C determinaba una reducción de la tasa de transpiración que afectaba la concentración foliar de calcio y boro. Un análisis detallado de estos aspectos se verá en los próximos capítulos.

Turgidez óptima

Algunas plantas no crecen bien al reducir la transpiración y las células pueden funcionar mejor con algún déficit hídrico, sugiriendo entonces la existencia de una turgidez óptima para las células. Cuando el agua no es suficiente para el funcionamiento fisiológico, entonces la planta desarrolla estrés hídrico. El crecimiento requiere la presión de turgor establecida en la célula por osmosis pero el incremento en el estrés hídrico inhibe este crecimiento celular, lo que constituye la primera respuesta de la planta a la falta de agua. Este aspecto se refleja muy bien en el ancho de los anillos de crecimiento en el tronco, los que se correlaciona positivamente con la cantidad anual de precipitación. Altos potenciales hídricos en la planta, derivados de un abastecimiento abundante de agua, producen que las células sean grandes y los anillos anchos, mientras que en años secos, las células son más pequeñas y los anillos más estrechos (i.e., *Prosopis spp*, López et al. 2005, 2006).

Cuando el estrés hídrico aumenta muchos procesos fisiológicos en la planta se ven afectados. Los más sensibles son el crecimiento celular, la síntesis de proteínas y la de pared celular.

EL PAPEL DE LA TRANSPIRACIÓN EN EL INTERCAMBIO DE ENERGÍA

Aunque son otros procesos y no la transpiración lo que disipan el calor de las hojas. El papel que juega frecuentemente la transpiración natural en el enfriamiento de una hoja es extremadamente importante.

La evaporación del agua es un poderoso proceso de enfriamiento. Cuando la velocidad de las moléculas de agua es muy alta, las con mayor energía se evaporan, resultando en una reducción de la energía promedio en las restantes moléculas, o sea, en un enfriamiento (ver Capítulo 2).

A veces la transpiración es el único medio importante de disipación de calor al medio. Por ejemplo, las hojas de la palma *Washingtonia fillifera* que crece en los oasis del sur de California, pueden presentarse más fría que el aire circundante, incluso en el momento de máxima exposición de luz

solar. El que la hoja permanezca más fría que el aire sólo se debe a que evapora grandes cantidades de agua.

Temperatura de la hoja

Si la temperatura de la hoja cambia, entonces una hoja es capaz de almacenar o perder calor. Una hoja delgada que almacena una cierta cantidad de calor aumentará rápidamente su temperatura, mientras que la misma cantidad de calor en una hoja suculenta sólo producirá un incremento ligero en aquélla. Esta condición se produce cuando se considera que la hoja se encuentra en un estado estable de equilibrio con el medio ambiente, esto es, a temperatura constante.

Es interesante analizar el balance de energía para una superficie foliar. A una temperatura foliar constante, este balance es:

$$Q + H + V + M = 0$$

donde, Q es la radiación neta (positiva si la hoja irradia menos energía de la que absorbe desde sus alrededores), H es la transferencia de calor sensible (incluye conducción y convección; positiva si la hoja gana más energía de la que pierde), V es el flujo de calor latente (negativo cuando se evapora el agua, positivo cuando se condensa), M es la energía asociada al metabolismo (positiva cuando se produce calor).

Radiación. Las hojas absorben luz y radiación infrarroja desde su alrededor pero también irradia energía infrarroja. Si la hoja absorbe más energía que la que irradia entonces el exceso se disipará por convección y/o transpiración. La radiación neta de una hoja en una planta debe considerar tres aspectos importantes. Primero, el espectro de absorción de una hoja porque de la energía incidente en la hoja, parte será transmitida, otra reflejada y también absorbida; segundo, la calidad de la luz sobre una hoja puede variar considerablemente y tercero, la energía radiante emitida por la planta es emitida en el infrarrojo lejano del espectro.

Calor sensible. Si la hoja tiene una temperatura diferente del aire circundante, intercambiará calor directamente por conducción (la energía de las moléculas de la superficie foliar que es intercambiada directamente por contacto con las moléculas del aire) y enseguida por convección (cantidad de aire que ha sido calentado, que se expande primero ligeramente y luego asciende). El calor es conducido en respuesta a la diferencia de temperatura entre la hoja y la atmósfera. La capa límite o zona de transferencia del fluido (gas o líquido) en contacto con la hoja en la que la temperatura, presión de vapor o velocidad del fluido es influenciada por la hoja define la resistencia a la transferencia de calor convectivo. Mientras mayor espesor posea la capa límite mayor resistencia a la transferencia de calor (Fig. 11).

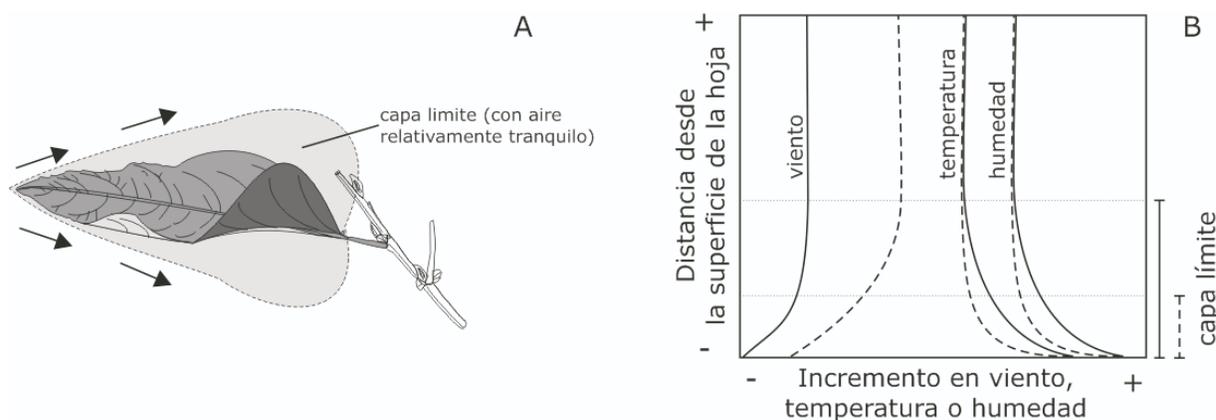


Fig. 11. La capa límite es la capa de aire en que la temperatura, la velocidad del viento y la humedad son influidas por la hoja. (A) La capa límite se hace más gruesa hacia la porción distal del borde de ataque de la hoja. (B) Gradiente de velocidad del viento, temperatura y humedad desde la superficie de una hoja. La hoja está a la misma temperatura pero varía la velocidad del viento (línea continua = viento débil, línea segmentada = viento fuerte) (Modificado de Salisbury & Ross 1994).

Calor latente. Mientras la transpiración enfría a la hoja (i.e., pérdida de calor latente), la condensación de humedad o hielo sobre la hoja (rocío o escarcha, respectivamente) libera el calor latente de condensación al medio ambiente y algo de este calor es absorbido por la hoja. De algún modo, es en parte una transferencia análoga de calor sensible. La fuerza conductora de la transpiración es la diferencia de presión de vapor (DPV) entre la hoja y la atmósfera mas allá de la capa límite. El gradiente de vapor de agua es influenciada primariamente por la humedad y la temperatura. La presión de vapor aumenta al doble por cada 10°C. Así el aire a 100% de humedad relativa a 21°C tendrá un 50% de humedad relativa si es calentada cerca de 33°C.

INTERCAMBIO DE ENERGÍA DE LAS PLANTAS EN LOS ECOSISTEMAS

La aplicación de los principios de la transferencia de calor ha permitido profundizar en la comprensión del funcionamiento de las comunidades de plantas.

Desierto

Los desiertos se caracterizan en presentar altas temperaturas y radiación, baja humedad y escasa disponibilidad de agua. Bajo estas condiciones, las plantas exhiben diversas especializaciones morfológicas que permiten conservar la humedad y mantener la temperatura relativamente baja. Por ejemplo, muchas plantas presentan hojas pequeñas con capa límite delgada que favorece una eficiente transferencia de calor convectivo; también la presencia de estomas hundidos produce una alta resistencia en la hoja y retarda la transpiración; otras plantas presentan tricomas que permiten reflejar mucha de la radiación solar. Otros ejemplos de ajuste es el cambio en el ángulo foliar que reduce la cantidad de energía solar sobre la hoja (Squeo et al. 1994). La modelación de la temperatura y transpiración de una hoja muestra que ambas disminuyen cuando aumenta la pubescencia (i.e., a mayor pubescencia menor absorbancia) y cuando aumenta en ángulo foliar (Fig. 12). Las plantas CAM (p.e., cactáceas) tienen la habilidad para cerrar sus estomas durante el día y fijar CO₂ dentro de ácidos orgánicos en la noche, conservando de este modo el agua.

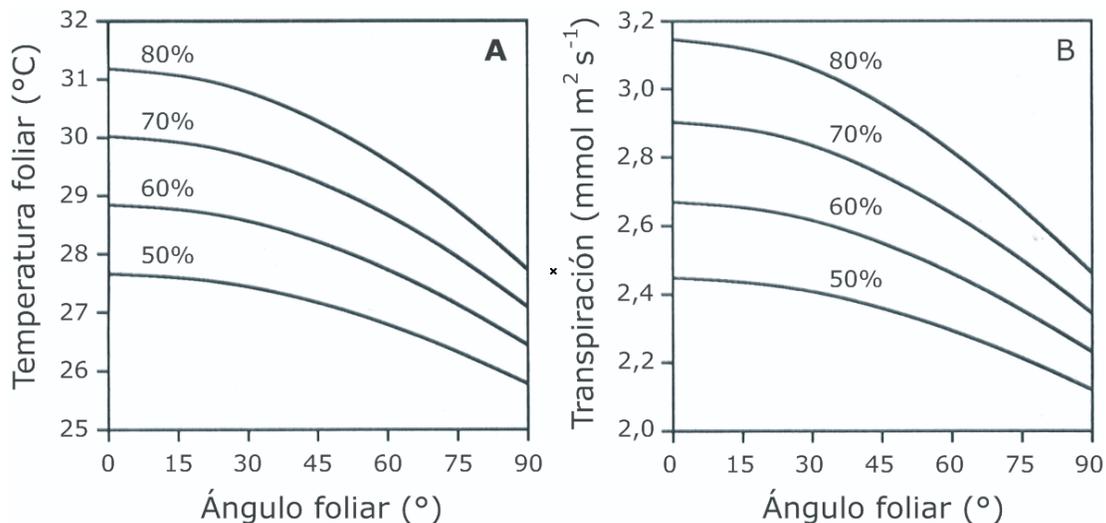


Fig. 12. Temperatura foliar (A) y transpiración (B) de una hoja hipotética de *Encelia canescens* con cuatro niveles de absorbancia foliar entre 400 y 700 nm (50%, 60%, 70% y 80%). Las condiciones usadas en las simulaciones fueron: radiación solar total = 1.000 W m⁻², radiación solar reflejada en el suelo = 15% de la radiación solar total, temperatura del aire a 20 m = 10°C, temperatura del aire a la altura de la hoja = 25°C, temperatura en la superficie del suelo = 50°C, humedad relativa = 30%, velocidad del viento = 1 m s⁻¹, ancho de la hoja = 2 cm y conductancia foliar total = 0,1 mol m⁻² s⁻¹ (modificado de Squeo et al. 1994).

Algunas especies desérticas pueden acceder a una fuente de agua ilimitada con el cual logran producir un enfriamiento evaporativo como respuesta a las temperaturas extremas del aire. Este

control de la transpiración permite a estas especies tener también un control considerable de la temperatura de la hoja dado que la baja humedad ambiental promueve diferencias de presión de vapor y que el alto espesor de la capa límite disminuye la transferencia de calor convectivo por el tamaño de sus hojas. Estas especies se caracterizan por presentar hojas de gran tamaño y altas tasas de transpiración.

Alta montaña

Las plantas que se presentan en este ambiente rara vez sufren por la falta de agua, no obstante, el enfriamiento evaporativo no constituye una ventaja por cuanto las temperaturas ambientales son frecuentemente bajas para el rango óptimo de los procesos metabólicos. Las plantas de alta montaña tienen hojas pequeñas o están finamente divididas y su crecimiento en forma de roseta no sobrepasa los 10 cm sobre el suelo debido a que las velocidades del viento reducen fuertemente el crecimiento. Cuando el sol está irradiando las hojas, la temperatura en la hoja puede alcanzar temperaturas de hasta de 30°C mientras el aire circundante puede estar en 20°C, indicando que la transpiración no provee mucho poder de enfriamiento en estos ambientes.

RESUMEN

La transpiración es la difusión de vapor de agua desde el interior de la hoja hacia la atmósfera. La transpiración depende de la conductancia foliar al vapor de agua y el DPV. Entre las metodologías más utilizadas para evaluar la transpiración a distintas escalas se encuentran los lisímetros, los sistemas de intercambio de gases y los sensores de flujo de savia.

El proceso de transpiración es conducido y regulado por los estomas que se ubican en la epidermis de las hojas y algunas otras estructuras aéreas. El aparato estomatal típico están conformado por dos células guardianas, un poro estomático y células subsidiarias.

Los cambios en el turgor de las células guardianas que conducen la apertura y cierre del estoma son dependiente de varios factores ambientales: luz solar, concentración de CO₂, viento, humedad, temperatura, nutrición mineral, entre otros.

La apertura del poro estomático se logra por un aumento del turgor en las células guardianas. Para que esto ocurra, se requiere de la entrada de agua, la que es explicada por una disminución del potencial osmótico dentro de la célula causado por la entrada de K⁺. La salida de K⁺ provoca una disminución en el turgor y el cierre estomático. También se debe tomar en cuenta una característica anatómica de las células guardianas, como lo es la existencia de la micelación radial y de un mayor grosor de la pared en el lado cóncavo adyacente al poro.

En el intercambio de gases en los estomas se produce un compromiso entre la necesidad de capturar CO₂ para la fotosíntesis y evitar la pérdida excesiva de agua. Existirían dos ciclos de retroalimentación: a) cuando disminuye el CO₂ en los espacios intercelulares, los estomas se abren permitiendo la difusión de CO₂. Este efecto, sumado al efecto directo de la luz azul, permite que se realice la fotosíntesis. b) por otro lado, si se presenta estrés hídrico, las raíces producen ABA en respuesta a estrés hídrico, el cual viaja por la corriente transpiratoria hacia las hojas donde causa el efecto de cierre estomático. En su acción en la células guardianas, el ABA estimula la acumulación de calcio en el citosol como un segundo mensajero, el que a su vez inhibiría el canal de entrada de K⁺.

Entre los beneficios de la transpiración se encuentran: a) ayuda a la absorción de minerales desde el suelo y el transporte dentro de la planta, b) mantiene un turgor celular óptimo, c) participa en la regulación de la temperatura foliar.

En algunos ecosistemas como los desiertos, las plantas exhiben diversas especializaciones morfológicas que permiten conservar la humedad y mantener la temperatura relativamente baja, entre ellas, hojas pequeñas con capa límite delgada que favorece una eficiente transferencia de

calor convectivo, pubescencia y altos ángulos foliares. Cuando disponen de agua, pueden enfriar sus hojas vía transpiración.

Preguntas y Problemas

- 1.- ¿Qué es la transpiración?
- 2.- ¿Cómo puede medir la transpiración y la evaporación desde el suelo en un cultivo? Proponga más de una alternativa metodológica.
- 3.- ¿Cómo se puede medir el flujo de la savia y que relación tiene con la transpiración?
- 4.- Explique la ecuación $E = g \cdot \Delta v$
- 5.- Describa brevemente los factores ambientales relacionados con la apertura y cierre de los estomas.
- 6.- ¿Cómo se explica la apertura estomática por disminución del CO_2 ?
- 7.- ¿Cuál es el mecanismo de cierre estomático en respuesta a estrés hídrico?
- 8.- ¿Cuáles serían los beneficios de la transpiración?
- 9.- ¿Explique la ecuación de balance de energía de una hoja a temperatura constante?
- 10.- ¿Qué representa el calor latente y calor sensible?

Lecturas Generales

- BUCHANAN BB, W GRUISSEM & RL JONES. 2000. Biochemistry & Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland.
- KRAMER PJ & JS BOYER. 1995. Water relations of plants and soils. Academic Press. INC. San Diego, California.
- SALISBURY F & C ROSS. 1994. Fisiología Vegetal. Editorial Iberoamericana. México.
- TAIZ L & E ZEIGER. 2006. Plant Physiology. Cuarta edición. Sinauer Associates Inc. Editores, Sunderland, MA.

Literatura Citada

- ABOUKHALED A, A ALFARA & M SMITH. 1981. Lysimeters. FAO Irrigation and Drainage Paper N° 39. FAO, Rome.
- ARNTZEN CJ, MF HAUGH & S BOBICK. 1973. Induction of Stomatal Closure by *Helminthosporium maydis* Pathotoxin. Plant Physiology 52: 569-574.
- BEHBOUDIAN MH, WR GRAVES, CS WALSH & RF KORCAK. 1994. Water relations, mineral nutrition, growth, and ^{13}C discrimination in two apple cultivars under daily episodes of high root-medium temperature. *Plant and Soil* 162: 125-133.
- BURGESS SSO, MA ADAMS & TM BLEBY. 2000. Measurement of sap flow in roots of woody plants a commentary. Tree Physiology 20: 909-913.
- DARRAL NM. 1989. The effect of air pollutants on physiological processes in plants. Plant, Cell and Environment 12: 1-30.
- DAVIES WJ, S WILKINSON & B LOVEYS. 2002. Stomatal control by chemical signalling and the exploitation of this mechanism to increase water use efficiency in agriculture. New Phytologist 153: 449-460.
- FISCHER RA. 1971. Role of Potassium in Stomatal Opening in the Leaf of *Vicia faba*. Plant Physiology 47: 555-558.
- FISCHER RA & TC HSIAO. 1968. Stomatal opening in isolated epidermal strips of *Vicia faba*. II. Responses to KCl concentration and the role of potassium absorption. Plant Physiology 43: 1953-1958.
- GOTOW K, S TAYLOR & E ZEIGER. 1988. Photosynthetic carbon fixation in guard cell protoplasts of *Vicia faba* L. Plant Physiology 86: 700-715.
- HARTUNG W, A SAUTER & E HOSE. 2002. Abscisic acid in the xylem: where does it come from, where does it go to?. Journal of Experimental Botany 53: 27-32.

- HETHERINGTON AM & IC WOODWARD. 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* 424: 901-908.
- JOHNSON RS, LE WILLIAMS, JE AYARS & TJ TROUT. 2005. Weighing lysimeters aid study of water relations in tree and vine crops. *California Agricultura* 59:133-136.
- KEARNS EV & SM ASSMANN. 1993. The Guard Cell-Environment Connection. *Plant Physiology* 102: 711-715.
- LAMBERT H, FS CHAPIN III & TL PONS. 1998. *Plant Physiological Ecology*. Springer, New York.
- LÓPEZ BC, R RODRÍGUEZ, CA GRACIA & S SABATÉ. 2006. Climatic signals in growth and its relation to ENSO events of two *Prosopis* species following a latitudinal gradient in South America. *Global Change Biology* 12: 897906.
- LÓPEZ BC, S SABATÉ, CA GRACIA & R RODRÍGUEZ. 2005. Wood anatomy, description of annual rings, and responses to ENSO events of *Prosopis pallida* H.B.K., a wide-spread woody plant of arid and semi-arid lands of Latin America. *Journal of Arid Environments* 61: 541-554.
- MCAINSH MR, NH EVANS, LT MONTGOMERY & KA NORTH. 2002. Calcium signalling in stomatal responses to pollutants. *New Phytologist* 153: 441-447.
- MONTENEGRO G. 1984. *Anatomía de especies vegetales autóctonas de la Zona Central*. Ediciones Universidad Católica, Santiago, Chile. 156 pp.
- PEARCY RW, ED SCHULZE & R ZIMMERMANN. 1989. Measurement of transpiration and leaf conductance: 137-153. En RW Percy, J Ehleringer, HA Mooney & PW Rundel (eds.). *Plant Physiological Ecology: Field methods and instrumentation*. Chapman and Hall, New York.
- PLOETZ RC & B SCHAFFER. 1987. Effects of *Phytophthora* root rot and flooding on photosynthetic characteristics of avocado. *Proc. Florida State Horticultural Society* 100: 290-294.
- PLOETZ RC & B SCHAFFER. 1988. Effects of flooding and *Phytophthora* root rot on net gas exchange and growth of avocado. *Phytopathology* 78: 204-208.
- RADIN JW & JS BOYER. 1982. Control of Leaf Expansion by Nitrogen Nutrition in Sunflower Plants. role of hydraulic conductivity and turgor. *Plant Physiology* 69: 771-775.
- RADIN JW & RC ACKERSON. 1981. Water Relations of Cotton Plants under Nitrogen Deficiency III. stomatal conductance, photosynthesis, and abscisic acid accumulation during drought. *Plant Physiology* 37: 115-119.
- RADIN JW. 1984. Stomatal Responses to Water Stress and to Abscisic Acid in Phosphorus-Deficient Cotton Plants. *Plant Physiology* 76: 392-394.
- ROBINSON MF, J HEAT, TA MANSFIELD. 1998. Disturbances in stomatal behaviour caused by air pollutants. *Journal of Experimental Botany* 49: 461-469.
- SCHOLZ FG, SJ BUCCI, G GOLDSTEIN, FC MEINZER & AC FRANCO. 2002. Hydraulic redistribution of soil water by neotropical savanna trees. *Tree Physiology* 22: 603-712.
- SCHOLZ FG, SJ BUCCI, G GOLDSTEIN, M MOREIRA, L STERNBERG & FC MEINZER. 2004. Redistribución hidráulica de agua del suelo por árboles de sabanas neotropicales. En HM Cabrera (ed) *Fisiología ecológica en plantas, mecanismos y repuestas a estrés en los ecosistemas*: 207 - 220, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile.
- SHARKEY TD & K RASCHKE. 1981. Separation and measurement of direct and indirect effects of light on stomata. *Plant Physiology* 68: 33-40.
- SPERRY JA, FR ADLER, GS CAMPBELL & JP COMSTOCK. 1998. Limitation of plant water use by rhizosphere and xylem conductance: results from a model. *Plant, Cell and Environment* 21: 347-359.
- SQUEO FA, JR EHLERINGER, N OLIVARES & G ARANCIO. 1994. Variation in leaf level energy balance components of *Encelia canescens* along a precipitation gradient in north-central Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*. 67: 143-155.
- TALBOTT LD & E ZEIGER. 1996. Central roles for potassium and sucrose in guard-cell osmoregulation. *Plant Physiology* 111: 1051-1057.
- TALBOTT LD & E ZEIGER. 1998. The role of sucrose in guard cell osmoregulation. *Journal of Experimental Botany* 49: 329-337.
- VAUGHN KC. 1987. Two immunological approaches to the detection of ribulose-1,5 bisphosphate carboxylase in guard cell chloroplasts. *Plant Physiology* 84: 188-196.

WILKINSON S & WJ DAVIES. 2002. ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. *Plant, Cell and Environment* 25: 195-210.

ZEIGER E, LD TALBOTT, S FRECHILLA, A SRIVASTAVA & J ZHU. 2002. The guard cell chloroplast: a perspective for the twenty-first century. *New Phytologist* 153: 415-424.