
CONSTRUCCION DE UN EQUIPO DE MEDIDA DE FOTOSINTESIS NETA Y TRANSPIRACION PARA PLANTAS INDIVIDUALES

Anundo Polanía, Gerardo Pérez* y Saúl Camacho

* Departamento de Química, Universidad Nacional, Bogotá

** Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, Bogotá

SUMARIO

Se construyó un equipo de medida de fotosíntesis neta y transpiración para plantas individuales jóvenes de sistema abierto. La parte aérea de la planta se introdujo en una cámara transparente con un sistema de entrada y salida de aire. Esta tenía un control de temperatura y ventilación y estaba iluminada por varias bombillas cuya distancia a la cámara era graduable.

Un analizador de gases infrarrojo midió la diferencia de concentración de CO_2 entre la entrada y la salida de la cámara. La humedad del aire era registrada por un higrómetro de punto de rocío. La concentración de CO_2 y H_2O en el aire que entraba a la cámara era controlada usando trampas selectivas y saturadores de vapor de agua. Con el equipo se hicieron medidas de tasas de fotosíntesis neta y transpiración en plantas de maíz. La precisión y la reproducibilidad de las medidas obtenidas con el equipo permiten su utilización para estudios del mismo tipo en otras especies.

ABSTRACT:

A gas open system equipment to measure net photosynthesis and transpiration rates in young plants was constructed. The body of the apparatus was a clear chamber with an air input and output system. The aerial part of the plant was introduced into the chamber that had attached a temperature and ventilation control and was illuminated by several lamps whose distance from the chamber was adjustable. The carbon dioxide concentration difference between the input and the output was measured with an infrared gas analyzer and the humidity was determined with a Dew-point hygrometer. The concentration of carbon dioxide of the air entering the

chamber was controlled using selective traps and the water concentration using ewater vapor saturators.

Net photosynthesis and transpiration rates in maize plants were obtained using the equipment described. The precision and reproducibility of the measures obtained make possible the use of this equipment in similar studies with other species.

INTRODUCCION:

En los últimos años se ha descubierto una serie de sucesos alrededor de la fotosíntesis que permitieron a los investigadores contemplar la posibilidad de controlar este proceso con el objetivo de mejorar la productividad de las plantas y por tanto la de los cultivos (1). Es así como actualmente se están llevando a la práctica los resultados obtenidos en el estudio de la fotosíntesis en sus diversas facetas (2).

La caracterización fotosintética de una especie o de una variedad, es decir, el conocimiento de su comportamiento fotosintético frente a los parámetros ambientales que gobiernan la fotosíntesis (temperatura, intensidad de luz, humedad del suelo y del aire, concentración de CO_2 , nutrientes), es una herramienta muy útil para la selección de la mejor técnica de cultivo y del mejor clima para la planta a sembrar.

En muchos países, desde hace varios años, se hacen cultivos en invernaderos, galpones o pabellones de plástico, en los que se pueden controlar favorablemente los parámetros anteriores obteniendo una productividad tal que compensa los gastos adicionales causados (3,4). Para este tipo de siembra, la caracterización fotosintética se hace indispensable con el fin de conocer exactamente los requerimientos de luz, agua, temperatura, dióxido de carbono, nutrientes, etc., que necesita la planta para su mejor desempeño fotosintético y por tanto mayor productividad(5). Otro campo de amplia investigación en fotosíntesis, en donde la caracterización fotosintética de plantas se requiere, es el de la selección de variedades por productividad y adaptabilidad a variados climas. También es útil en los programas de fitomejoramiento que consideran los parámetros de calidad, productividad y adaptabilidad (2).

La forma más conveniente de caracterizar fotosintéticamente una planta, es mediante el uso de equipos de medida de ratas de fotosíntesis neta (Fn) (mg CO_2 fijado/ dm^2 de área foliar/hr) y transpiración (T) ($\text{g H}_2\text{O}$ transpirada/ dm^2 de área foliar/hr), con control de parámetros ambientales. Existen diversos tipos de equipos que difieren en tamaño y grado de sofisticación: desde equipos para una o varias plantas, hasta equipos para medición en una sola hoja; son equipos de variados sistemas de medida para uso en el campo o en el laboratorio, dependiendo del tipo de estudio a realizar.

En este trabajo describimos la construcción de un equipo utilizable en estudios de caracterización fotosintética de plantas individuales.

PARTE EXPERIMENTAL

Equipo:

El equipo construido para la medida de ratas de fotosíntesis neta y transpiración para plantas individuales y de sistema abierto para gases, es similar al utilizado por otros autores (6,7). En él se aprovecha el intercambio gaseoso de CO_2 y vapor de agua que ocurre a través de las hojas, para encontrar las ratas de fijación de dióxido de carbono y la pérdida de vapor de agua en respuesta a temperatura, intensidad de luz, concentración de CO_2 y humedad. También pueden determinarse algunos pa-

rámetros como la resistencia de los estomas y del mesófilo a la difusión y fijación del CO_2 , parámetros que influyen directamente en la rata de fotosíntesis.

Un diagrama del equipo construido y ensamblado se muestra en la figura 1. La parte aérea de la planta se introdujo en una cámara transparente de plexiglass, herméticamente sellada, con entrada y salida para gases e iluminada por varias lámparas. La cámara se acondicionó con un control de temperatura y ventilación. La diferencia de concentración de CO_2 entre la entrada y la salida de la cámara se registró mediante el uso de un espectrofotómetro infrarrojo para gases específico para CO_2 y el vapor de agua se midió con un higrómetro de punto de rocío.

El equipo consta de las siguientes partes:

1. Sistema planta - cámara:

La cámara se presenta en la figura 2, en la cual se ilustra la disposición de la planta y los sistemas de control de temperatura y ventilación. El tallo de la planta se selló a la base de la cámara usando plastilina para tipos de máquina de escribir. Las dimensiones de la cámara fueron $30 \times 40 \times 50$ cm., con un espesor de lámina de 1 cm. La entrada y la salida para gases se ubicaron en la base al igual que un pequeño radiador alimentado por un baño de temperatura constante el cual formaba parte del sistema de control de temperatura. Se colocó un ventilador detrás del radiador con el objeto de mezclar y homogenizar los gases y para obtener una temperatura uniforme en el interior.

La cámara fue iluminada con seis lámparas incandescentes (General Eléctric) de 150 vatios cada una. Subiéndolas o bajándolas se obtuvieron diferentes intensidades de luz, entre cero y 12.000 bujías-pié. Las intensidades fueron medidas con un fotómetro (Weston). El tipo de bombillas utilizadas presentó alta emisión en la región del rojo e infrarrojo⁽⁸⁾ y por tal razón se colocó entre éstas y la cámara un filtro de agua de 8-10 cm. de espesor para eliminar tal radiación. Este filtro consistió en una tina de plexiglass ($60 \times 60 \times 13$ cm.), con un sistema de flujo continuo de agua.

Para conocer el rango y características espectrales de las lámparas utilizadas, se diseñó un sistema en donde se usó el fotómetro y filtros de luz de longitud de onda conocida. Se fijó una distancia constante entre la bombilla y la fotocelda del fotómetro, se hicieron medidas de intensidad de luz transmitida colocando entre la fotocelda y la lámpara los diferentes filtros. En la figura 3, se observa el espectro de emisión en términos de intensidad de luz vs. longitud de onda. También se hicieron las mismas medidas de emisión con luz solar en días de brillo total.

2. Sistema de suministro de aire a la cámara:

El aire fue impulsado a través de todo el sistema por un compresor que lo tomaba directamente del exterior. Las medidas de concentración de CO_2 en el aire mostraron que las máximas variaciones fueron de ± 3 ppm. Se tomó como concentración normal de CO_2 en el aire, 300 ppm⁽⁹⁾. Algunas veces el aire se suministró a partir de cilindros de aire comprimido. Los flujos a la cámara fueron medidos y controlados dependiendo de la planta en estudio. Se usaron diferentes flujos (2-11 l/min) medidos con flujómetros de bola flotante o rotámetros (Matheson).

En este sistema de provisión de aire, se controló la concentración de dióxido de carbono y vapor de agua por medio de trampas selectivas y saturadores de vapor respectivamente. En primer lugar se usó ascarita (mezcla de asbesto y soda sólida) como trampa bastante efectiva, para retirar la totalidad de CO_2 del aire cuando se hicieron medidas de Fotosíntesis neta (Fn) y Transpiración (T) a diferentes concentraciones del gas. Mediante el uso de una cámara mezcladora de aire con agitación

magnéticas y flujómetros, se inyectó aire con el contenido normal del CO_2 (300 ppm) y aire sin CO_2 (0-0.5 ppm), obteniendo las concentraciones de CO_2 requeridas por medio de la mezcla de los volúmenes adecuados. Luego para obtener el contenido de vapor de agua en el aire próximo a entrar a la cámara, se instalaron tres frascos saturadores de vapor de agua sumergidos en un baño termostataado y enfriados a diferentes temperaturas ($2-5^\circ\text{C} \pm 0.3^\circ\text{C}$), según fuera la humedad relativa deseada en la cámara. Estos frascos consistían en erlenmeyers de tubuladura lateral con dispersores de gas (vidrio poroso) y con agua ligeramente acidulada (para evitar la absorción de CO_2). Se conectó un refrigerante (a temperatura del baño) al último frasco de humidificación para condensar el exceso de vapor de agua arrastrado por el aire. Con la ayuda de tablas ⁽⁸⁾ y la temperatura registrada a la salida del refrigerante, se estableció el contenido de vapor de agua.

3. Sistema de medida de concentración de vapor de agua, de CO_2 y de temperatura

El aire que salía de la cámara, era parcialmente utilizado para hacer el registro de CO_2 y H_2O . AL pasar el flujo de aire (400-600 ml/min) por el higrómetro de punto de rocío (EG & G), éste registraba la temperatura ($\pm 0.01^\circ\text{C}$) a la cual el vapor de agua del aire formaba rocío. Con esta temperatura y el uso de las tablas de vapor de agua de saturación⁽⁸⁾, se determinaba la concentración de vapor de agua a la salida.

Una vez salido del higrómetro, el aire se hacía pasar por dos trampas de cloruro de Calcio anhidro, para retirar la humedad y permitir el paso de aire seco al analizador de gas de infrarrojo (IRGA), específico para CO_2 (BECKMAN 215A). Este analizador posee dos sistemas de registro de concentración de gas. Con uno de ellos el aparato registró la diferencia de absorción de radiación Infra-roja, en dos celdas, tomada una como referencia por donde fluyó nitrógeno gaseoso (que no absorbe radiación infra-roja, a la longitud de onda empleada) y otra tomada como muestra, por donde fluía el aire que entraba o salía de la cámara. Mediante el uso de una curva de calibración se conocía la concentración de CO_2 indicada (± 1 ppm); la escala completa de 100 unidades del aparato equivalía en esta curva a 1000 ppm. El otro sistema es un método diferencial de mayor sensibilidad ya que la escala completa del aparato correspondía en la curva de calibración a 300 ppm (± 0.5). Se hacía pasar por la celda de referencia aire con el menor contenido de CO_2 (aire a la salida de la cámara) y por la celda de muestra circulaba aire con el mayor contenido de gas (aire que entraba a la cámara). Al IRGA se acopló un servo-registrador (Heath, modelo EU-20B), para obtener un registro continuo de la concentración del gas.

La temperatura se midió con termopares de cobre-constantan y un microvoltímetro (Keithley, modelo 155). Se utilizó como temperatura de referencia 0°C y para ello se usaron celdas de referencia (Matheson) que provocaban una diferencia de potencial igual a la que se presentaría con un punto cobre-constantan sumergido en mezcla hielo-agua (0°C). La temperatura fue continuamente medida en uno de los vasos de humidificación, en la salida del refrigerante, en la cámara y en la hoja de la planta en estudio (se usó para ésto último un punto de cobre-constantan más fino y plastilina para adherirlo al envés de la hoja). La precisión de medida fue $\pm 0.25^\circ\text{C}$.

Manejo del equipo

Una vez instalada la planta, sujetando las hojas con hilos para no provocar sombras sobre ellas, se cerró la cámara y se sometió a condiciones de intensidad de luz y temperaturas bajas. Estas condiciones se cambiaron lentamente hasta las requeridas, permitiendo que el sistema alcanzara un estado estacionario antes de tomar

nuevamente los datos. Así sucesivamente hasta completar el rango de variable elegida. La población de datos fue tomada con tres o cuatro plantas en cada caso.

La operación correcta del equipo requiere:

- Revisión de posibles escapes de aire. Esto se puede hacer observando la conservación de flujos a la entrada y salida del sistema.
- Renovación frecuente de las trampas de ascarita y cloruro de calcio.
- Disposición adecuada de las hojas de la planta en la cámara, para no provocar sombras.
- Corte de las hojas marchitas y en formación por presentar ratas de fotosíntesis anormales.
- Control permanente sobre flujos y temperaturas.
- Colocación apropiada de termopares.
- Revisión periódica de las curvas de calibración del analizador de gases infra-rojo.
- Renovación frecuente de la planta en uso (1-3 días), sobre todo si se trata de plantas de rápido crecimiento como el maíz (uso máximo 1 día), ya que el área foliar cambia rápidamente.
- Disminución del volumen de la cámara, para plantas con bajas ratas de fotosíntesis, para obtener repuestas y estados estacionarios más rápidamente. Esto se logra colocando dentro de la cámara, cuerpos inertes que reduzcan el volumen.

TRATAMIENTO MATEMATICO DE LOS DATOS OBTENIDOS CON EL EQUIPO

Con los datos obtenidos y el uso de las siguientes fórmulas propias de este sistema de medida ⁽¹⁰⁾, se determinaron las ratas de fotosíntesis neta y transpiración:

$$\text{Fotosíntesis neta (Fn)} = \frac{([\text{CO}_2]_e - [\text{CO}_2]_s) \text{ flujo}}{\text{área foliar}} \quad (1)$$

$$\text{Transpiración (T)} = \frac{([\text{H}_2\text{O}]_s - [\text{H}_2\text{O}]_e) \text{ Flujo}}{\text{área foliar}} \quad (2)$$

donde los subíndices e y s, simbolizan las posiciones de entrada y salida de la cámara, respectivamente. Las unidades en que se expresaron Fn y T fueron:

$$F_n = \text{mg CO}_2/\text{dm}^2 \text{ de área foliar/hr.}$$

$$T = \text{g vapor de H}_2\text{O}/\text{dm}^2 \text{ de área foliar/hr.}$$

El área foliar se determinó por el método del peso de 1 dm² de papel; se calcaba en un papel el contorno de las hojas de la planta usada y con el peso de estas réplicas y el de 1 dm² de papel se calculaba el área foliar.

Los valores de la resistencia del aire (ra), del estoma (re) y del mesófilo (rm) para CO₂ y para vapor de agua (ra' y re'), se calcularon usando las siguientes fórmulas: ⁽¹⁰⁾:

$$F_n = \frac{[\text{CO}_2]_{\text{aire}} - [\text{CO}_2]_{\text{cloroplasto}}}{r_a + r_e + r_m} \quad (3)$$

$$T = \frac{[(H_2O) \text{ hoja} - (H_2O) \text{ aire}]}{ra' + re'} \quad (4)$$

$$ra + re = 1.7 (ra' + re') \quad (5)$$

asumiendo que la concentración de CO_2 en los cloroplastos es cero (es el sitio de consumo para su conversión a carbohidratos) y que el aire que llena los espacios internos de la hoja está saturado de vapor de agua ⁽¹⁰⁾. El valor de la resistencia del aire puede ser determinado midiendo la rata de transpiración o evaporación de hojas de papel humedecidas, simulando las hojas de las plantas en estudio. Se utiliza para ello la ecuación ⁽⁴⁾ sabiendo que la resistencia estomatal re' , vale cero ya que una hoja de papel no tiene estomas.

Con el propósito de ilustrar los datos experimentales obtenidos con el equipo se presentan en la tabla 1 los valores encontrados con una planta de maíz, así como los parámetros calculados. Estos valores son similares a los citados en la literatura (1,5, 10).

Se hicieron las medidas de F_n , T y demás de la tabla 1, con cuatro plantas de maíz ICA H507 (cultivadas y mantenidas a las mismas condiciones), usando como variable la intensidad de luz. La población de datos obtenida con las cuatro plantas, 22 en total para cada parámetro, fue sometida a un análisis estadístico de Regresión Lineal Múltiple, realizado en el Centro de Cálculo del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), en Tibaitatá.

La Tabla 2 presenta los resultados de dicho análisis. En ellas pueden observar los valores de las pruebas de distribución F y t (student), que comparados con las tablas estadísticas correspondientes ⁽¹¹⁾, muestran que existe una probabilidad mayor de 0.995 (coeficiente de confiabilidad), de que los datos representan la función expuesta. Así mismo los valores de los coeficientes de correlación, $\sqrt{R^2}$, están por encima de los valores reportados para estos parámetros fisiológicos en tablas estadísticas ⁽¹¹⁾, para la población dada con el mismo coeficiente de confiabilidad 0.995.

DISCUSION:

Los resultados obtenidos con el equipo en la determinación de F_n y T vs intensidad de luz en plantas de maíz, son comparables a los citados en la literatura para esta especie ⁽¹⁾. Esto indica la validez de los datos experimentales obtenidos, la cual se corrobora al considerar los resultados del análisis estadístico de estos datos. La reproducibilidad y la precisión de las medidas indican que el equipo es adecuado para medir los cambios de F_n y T en función de variables tales como intensidad de luz, concentración de CO_2 , temperatura, etc.

El manejo del equipo es sencillo y su construcción resulta relativamente económica cuando se considera el costo de equipos más sofisticados con los cuales se llevan a cabo estudios similares.

Tabla No. 1
DETERMINACION DE FOTOSINTESIS NETA (Fn) Y TRNSPIRACION (T) EN MAIZ

I. L. b - p	Higr °C	H ₂ O-s g/m ³	t ^o baño °C	H ₂ O-e g/m ³	T gH ₂ O/ dm ² /hr	ΔH ₂ O g/m ³	re s.cm ⁻¹	IRGA	CO ₂ ppm	Fn mgCO ₂ / dm ² /hr	rm s.cm ⁻¹
690	16.10	13.72	3.00	5.947	0.717	16.66	12.364	16.0	5.21	16.15	48.74
1381	17.20	14.65	3.00	5.947	0.803	15.73	10.137	25.5	9.91	25.61	26.27
1766	18.90	16.21	3.37	6.098	0.933	14.17	7.444	36.0	15.11	36.50	16.43
4332	21.20	18.55	3.75	6.254	1.135	12.67	4.985	52.5	23.27	52.61	9.79
11937	22.20	19.65	3.50	6.150	1.246	10.73	3.423	66.5	30.20	66.50	7.08

Planta = Maiz ICA H507. Variable en estudio = Intensidad de luz

Datos obtenidos con una planta.

Condiciones experimentales: Flujo = 10 L/min. Area foliar = 6.5 dm²

Temperatura de hoja = 30°C; [H₂O] hoja = 30.38 g/m³; [CO₂] aire = 300 ppm.

I, L, = Intensidad de luz, medida en bujías -- pie (b-p)

Higr = Lectura en el higrómetro

H₂O-s = Concentración de vapor de agua que sale de la cámara

H₂O-e = Concentración de vapor de agua que entra a la cámara.

Tabla No. 2
ANÁLISIS ESTADÍSTICO; REGRESIÓN LINEAL MÚLTIPLE*

Ordenada Y	Media X	Media Y	Varianza X	Varianza Y	Prueba F	Coef. Determinación R ²	Prueba t (α)	Prueba t (1)	Ecuación
F _n	7.872	39.051	0.959	380.135	185.75"	0.903	-9.98"	13.63"	$Y = 109.882 + 18.92 \text{ Ln} X$
T	3.257	0.964	0.959	0.053	29.43"	0.595	3.24"	5.42"	$Y = 0.370 + 0.182 \text{ Ln} X$
ra + re	3.268	2.085	0.958	0.209	37.40"	0.652	15.80"	-6.11"	$X = 1. \text{ Lx} 10^{-2}$ $\text{Ln} Y = 3.318 - 0.377 \text{ Ln} X$
rm	3.267	2.921	0.959	0.695	109.57"	0.846	21.51"	-10.46"	$X = 1. \text{ Lx} 10^{-2}$ $\text{Ln} Y = 5.479 - 0.783 \text{ Ln} X$

Plantas estudiadas: 4 (Maíz ICA H 507)

Total de datos experimentales: 22

Ordenada X: Intensidad de luz

Las dos comillas (") indican que la probabilidad de las pruebas F y t, es mayor de 0.995 de que los datos representen la función expuesta (1).

* Realizado en el Centro de Cálculo del ICA, Tibaitatá.

FE DE ERRATAS

Pág.	Renglón	DICE	DEBE DECIR
1	21	phosphorus	phosphorus
3	12	testigo con el testigo con el suelo original.	testigo con el suelo original
4	Tabla 1	Ga^{++}	Ca^{++}
4	Tabla 1	Falto incluir :	CIC (meq/100 ml de suelo) 18.0 - 60.0
11	9	4/B (2S _{0.75})	4B (2S _{0.75})
11	14	1.2 : 1.0	0.2 : 1.0
11	38	4/B (4S _{0.50}) R _{0.1}	4B (4S _{0.50}) R _{0.1}
14	6	4.53,2	4.5
14	17	4B (2S _{0.75}) R _{N 5} b	4B (2S _{0.75}) R _{B 5} b
14	21	4B (4S _{0.50}) R _{0.2} b 19	4B (4S _{0.50}) R _{0.2} b 10
19	19	espectros minerales	espectros de minerales
23	10	compensación	comparación
28	Tabla 4	dAl ⁰	dAl ⁰
33	11	Me ₃ BuNi, Me ₂ BuNi, MeBu ₃ Ni	Me ₃ BuNi, Me ₂ Bu ₂ Ni, MeBu ₃ Ni
35	6	y se filtraron con éter	y se lavaron con éter
40	1	feldspars were detected	feldspars were not detected
42	22	reflexion de la ilita	reflexión basal de la ilita
42	40	consecuencia de los grupos OH.	consecuencia de la pérdida de los grupos OH
51	11	(Figs 8 y 9)	(Figs. 7 y 8)
55	4	21, 3 ^o (111)	21, 3 ^o (11 $\bar{1}$)
55	8	1 $\bar{1}0$ y 111	1 $\bar{1}0$ y 11 $\bar{1}$

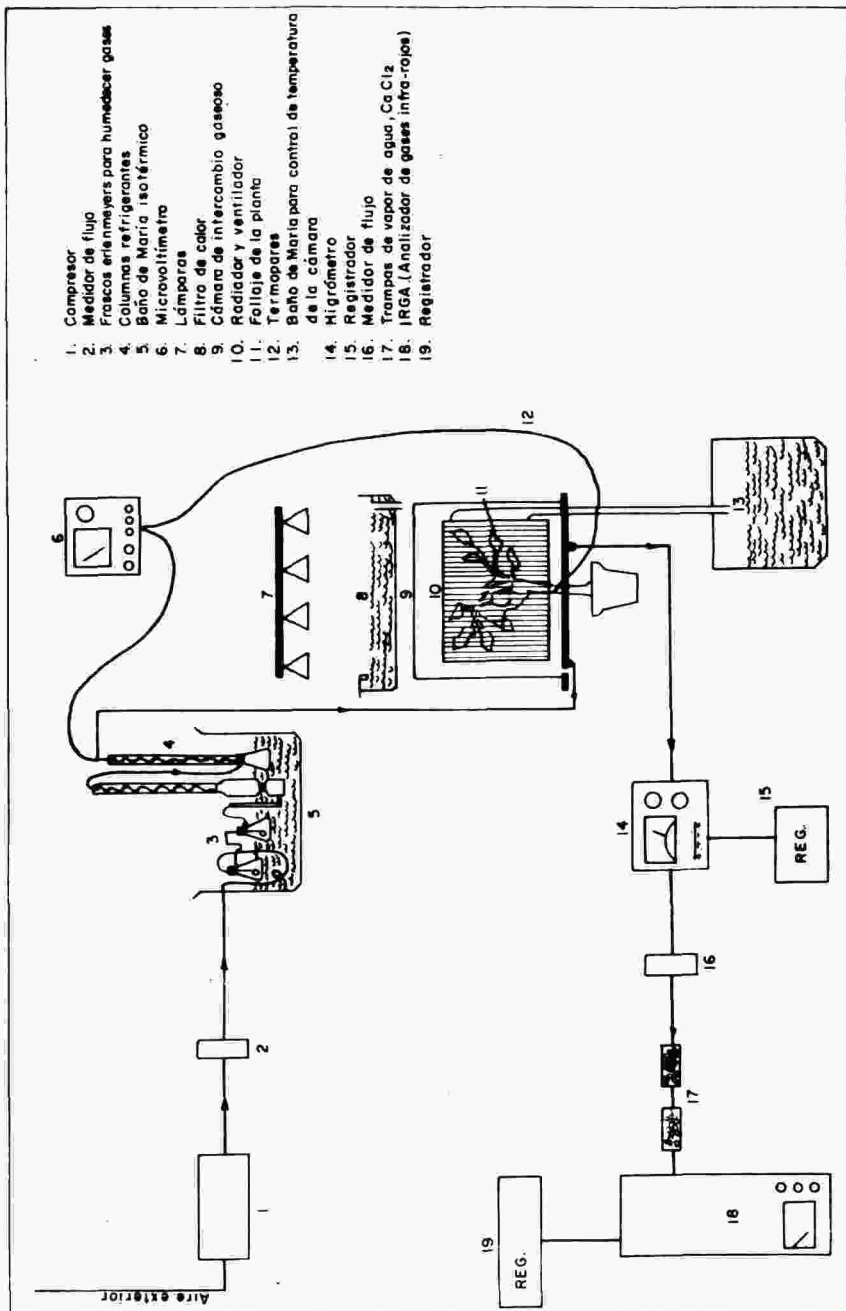


FIGURA 1. Diagrama del equipo para medida de rotos de fotosíntesis y transpiración.

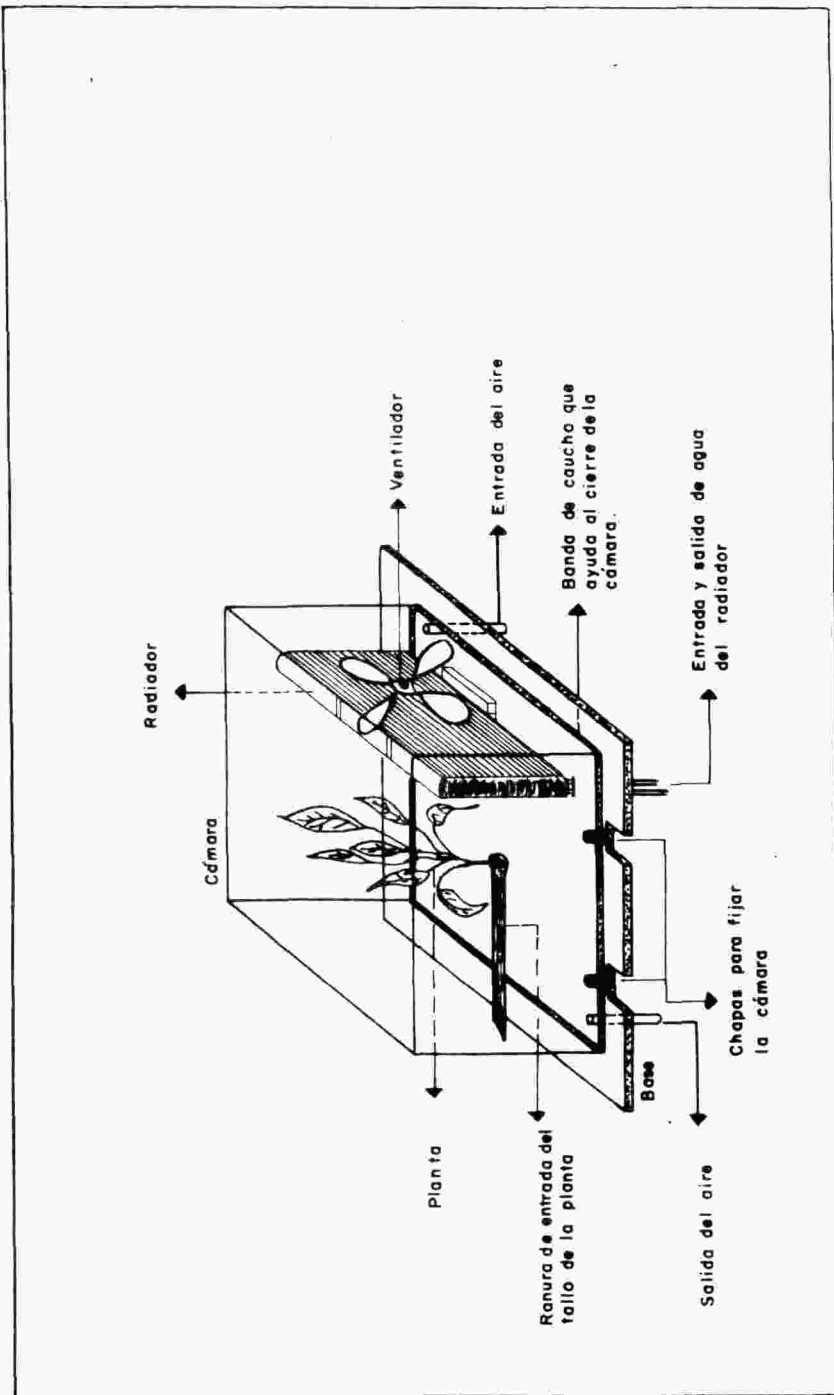


FIGURA 2. Dibujo de la cámara y sus aditamentos con la parte aérea de la planta dentro. La cámara fue construida en plexiglass y sus dimensiones internas son: 30 x 40 x 50 cms.

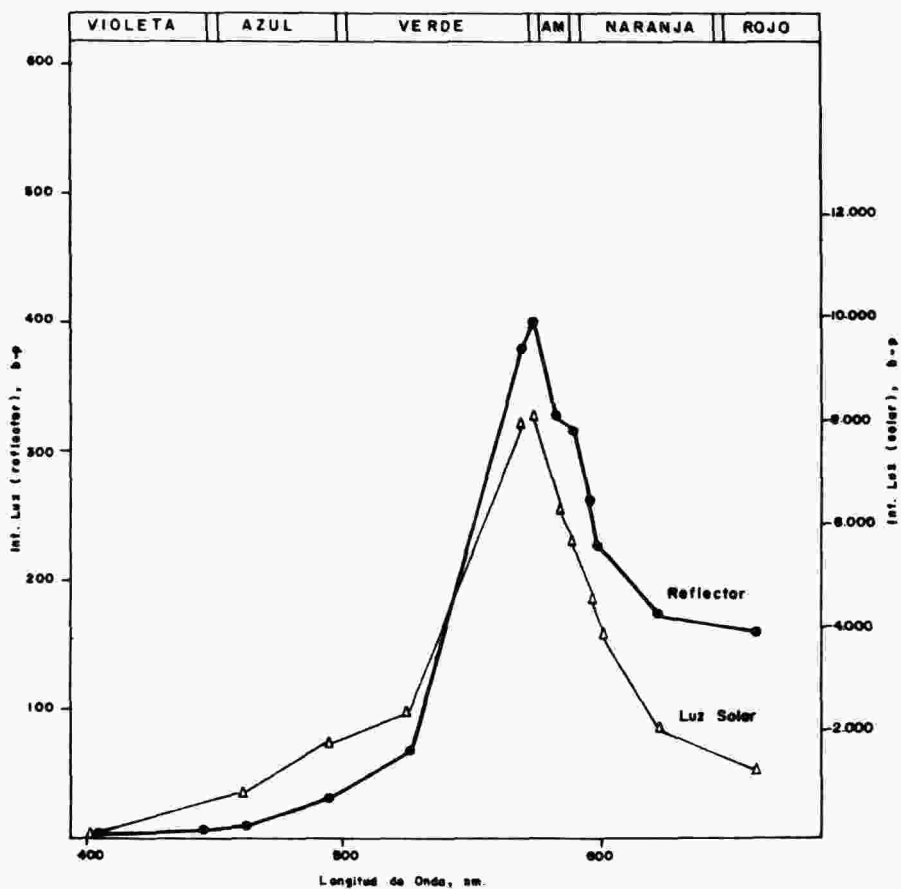


FIGURA 3. Espectros de emisión de una bombilla reflector (General Electric 150 vatios, 120 voltios) y de la luz solar (ICA, Tibaitatá), tomados con filtros de longitud de onda conocida.

BIBLIOGRAFIA:

1. I. Zelitch, "Photosynthesis, Photorespiration and plant productivity", Academic Press, New York, p.p. 10-18, 171, 184, 185, 269, 284, 1971.
2. I. Zelitch, *Crop and Eng.*, **5**, 28 (1979).
3. J.C.J. Kuiken and G.H. Germing, *Span*, **15**, 89 (1972).
4. W.B. Collins, *Hortscience*, **11**, 467 (1976).
5. P.J.M. Sale, *Aust. J. Plant Physiol.*, **2**, 461 (1975).
6. S.E. Camacho, A.E. Hall and M.R. Kaufman, *Plant Physiol.*, **54**, 169 (1974).
7. K.O. Higginbotham and B.R. Strain, *Photosynthetica*, **10**, 54 (1976).
8. Instrumentation Specialties, Co. Iscotables, 4a. Ed., Instrumentation Specialties Company, New York, p. 37-8, 1972.
9. The Merck Index, Merck R. Co., Inc. 9a. Rd., Rahway, New York, p. 230, 1976.
10. P. Gaastra, *Meded. Landbouwhogeschool Wageningen*, **59**, 1 (1959).
11. R. A. Fisher y F. Yates, "Tablas estadísticas", Ed. Aguilar S.A., Madrid, pp 50, 61, 64, 1954.