

## Relaciones hídricas e intercambio de gases en *Theobroma cacao* var. Guasare bajo períodos de déficit hídrico

F. Rada<sup>1</sup>, R. E. Jaimez<sup>2</sup>, C. García-Núñez<sup>1</sup>, A. Azócar<sup>1</sup> y M. E. Ramírez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE), Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela.

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP), Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, Universidad de Los Andes, Apartado Postal 77. La Hechicera, Mérida 5101, Venezuela.

### Resumen

Se evaluó las relaciones hídricas y el intercambio de gases en *Theobroma cacao* var. Guasare bajo períodos de déficit hídrico. Se midieron las variables microclimáticas (temperatura del aire, humedad relativa y radiación fotosintéticamente activa), intercambio de gases (conductancia estomática, tasas de transpiración y de asimilación de CO<sub>2</sub>) y potencial hídrico foliar, a lo largo del día en plantas sujetas a 3, 12 y 25 días sin agua. Se utilizaron curvas presión-volumen para determinar el potencial osmótico en el punto de pérdida de turgor. Se observó una disminución significativa ( $P < 0,05$ ) en la conductancia estomática a medida que aumentó el estrés hídrico. Las características del intercambio de gases también se vieron afectadas. Se registró un evidente ajuste osmótico en las plantas sometidas a 3 y 12 días sin agua, mientras que no ocurrió un ajuste adicional 25 días después. La eficiencia en el uso del agua aumentó a medida que la disponibilidad hídrica disminuyó. Las tasas de asimilación de CO<sub>2</sub> se redujeron en un 25% en las plantas severamente estresadas, mientras que las tasas de transpiración disminuyeron en un 39%, indicando que el cierre estomático afecta las pérdidas de agua en un mayor grado.

**Palabras clave:** tipo criollo, estrés hídrico, asimilación de CO<sub>2</sub>, conductancia estomática, ajuste osmótico.

## Introducción

La cantidad y distribución de la precipitación constituye importantes factores ambientales que afectan la producción de *Theobroma cacao* L. bajo condiciones de campo (3). Como Alvim (2) indicó, la periodicidad hidráulica es el principal factor climático que induce la apertura de brotes vegetativos y realza el florecimiento en cacao. Bajo condiciones de campo, pueden ocurrir muchos períodos sin lluvia. La longitud, especialmente de la estación más seca, puede afectar los procesos fisiológicos los cuales reducen la producción del cacao (4, 6).

En general, estudios en la respuesta de cacao acerca del déficit hídrico han sido realizados en plantas jóvenes y en ambientes controlados. Bajo estas condiciones, las tasas de asimilación y transpiración generalmente disminuyen de manera lineal, al tiempo que se intensifica el estrés (5, 6). Por ejemplo, Joly (12) y Joly y Hahn (13), trabajando con los tipos de cacao Amazonian y Trinitario, han reportado una reducción en las tasas de asimilación y transpiración bastante significativas, cuando el potencial de agua de la hoja alcanza  $-0.8$  Mpa. Además de esto, también se ha reportado que la translocación ha sido afectada en la mayoría de los casos por la reducción del potencial de agua de la hoja (7).

Frimpong *et al.* (8), trabajando bajo condiciones de vivero en el tipo de cacao Amazonian, encontraron que las plántulas tolerantes al tiempo de sequía presentaron mayor peso de la

hoja, mayor capacidad para retener los brotes apicales y un mayor peso seco de la raíz. Sin embargo, no se encontraron diferencias en las tasas de fotosíntesis, en el contenido de agua de la hoja ni en el contenido de cera epicuticular entre los cultivares probados. Por el contrario, Joly y Hahn (13) encontraron diferencias con respecto a la tasa de asimilación y la eficiencia del uso de agua durante períodos secos en los diferentes tipos de cacao previamente mencionados.

Además de la escasa información en la respuesta de cacao hacia diferentes estrés en la etapa adulta, muchos de estos aspectos han sido evaluados básicamente en los tipos de cacao Forastero y Trinitario (2, 6, 13). Se sabe muy poco acerca de la respuesta fisiológica del tipo de cacao Criollo bajo períodos de deficiencia de agua, y como éstas respuesta difieren en relación a los otros tipos. Es muy interesante el darse cuenta que pocas investigaciones han sido dirigidas hacia el entendimiento de los mecanismos del árbol de cacao para sobrevivir a diferentes condiciones de estrés climáticos en campo. Además, las respuestas de cacao hacia el estrés de agua, reportados en la literatura, son confusos y contradictorios (10). Tomando en cuenta todos estos aspectos, el objetivo del presente trabajo fue el de evaluar el intercambio de gas y relación de agua en el planta de cacao Guasare (tipo criollo) sometido a períodos de déficit de agua en condiciones de campo.

## Materiales y métodos

El estudio se llevó a cabo usando plantas de cacao tipo Guasare de cuatro años de edad. La localidad fue la estación experimental del INIA, en San Juan de Lagunillas, Mérida, Venezuela (08° 31'N, 71'W), 1100 m por encima del nivel del mar. El tipo de suelo ha sido clasificado como Cambortid, con una profundidad efectiva de 21 cm (18). Esta región es semiárida con precipitaciones anuales de 570 mm, evaporaciones anuales alrededor de 2007 mm y una temperatura anual promediada de 22°C. Las plantas de cacao sembradas a 3 x 3 m, fueron mezcladas con plantas de plátano (3 x 3) m y árboles de *Erythrina poeppigiana* (20 x 20) m. Las plantaciones de cacao fueron fertilizadas dos veces al año con el fertilizante comercial NPK 14-14-14, de acuerdo a las necesidades nutricionales del suelo. La fertilización se realizó al comienzo del período de lluvia (Abril y Septiembre). Antes de iniciarse la investigación, las plantas de cacao habían sido regularmente regadas cada tres días usando el método de riego por goteo.

Las medidas del intercambio de gas, la fotosíntesis (A), la transpiración (E) y la conductancia estomática ( $G_s$ ), fueron registradas usando un sistema portátil infrarrojo analizador de gas de modo abierto (LCA4, ADC Ltd., Hoddington, Inglaterra). El potencial de agua de la hoja ( $\Psi_1$ ) fue medido usando una cámara de presión. Todas las medidas fueron registradas simultáneamente en intervalos de dos ho-

ras, desde las 9:00 hasta cumplidas las 18:00 h, en plantas que habían sido sometidas a diferentes períodos de estrés de agua: tres días, doce días y veinticinco días. Cada tratamiento tenía 15 árboles. Las medidas fueron realizadas en la tercera o cuarta hoja del botón más reciente durante los dos días posteriores una vez suspendido el riego, en cinco plantas seleccionadas al azar para cada tratamiento. El potencial osmótico de la hoja hacia la pérdida de turgor fue valorado en el laboratorio, usando curvas de presión-volumen para seis hojas de diferentes plantas de cada tratamiento (21, 22).

Los parámetros microclimáticos como por ejemplo la radiación fotosintéticamente activa (PAR), humedad relativa y temperatura del aire junto con la temperatura de la hoja, fueron obtenidos simultáneamente con el cambio de gas y las medidas del potencial de agua. La temperatura del aire y de la hoja fueron obtenidos usando el termopar cobre-constantan y humedad relativa, midiéndolos con un higrómetro digital. Las temperaturas de la hoja y el aire con humedad relativa, fueron usadas para estimar la diferencia de la presión de vapor entre la hoja y aire (VPD). La integración de CO<sub>2</sub> diaria, la asimilación y las curvas de transpiración (desde las 9:00 hasta las 18:00 h) fueron realizadas con el propósito de obtener la asimilación diaria total y la transpiración ( $A_{tot}$  y  $E_{tot}$ , respectivamente) (17, 20).

## Resultados

Ambos valores registrados de PAR y VPD fueron similares para todos los tratamientos a lo largo del día (figura 1.A). La máxima diaria de PAR ( $750 \mu\text{mol m}^{-2}\text{seg}^{-1}$ ) ocurrieron entre 10:00-12:00 h, alcanzando valores entre  $50\text{-}200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{seg}^{-1}$  por la tarde. La máxima de VPD (2.45 Kpa) fueron obtenidos al mediodía (figura 1.B).

Las plantas que no fueron regadas por 25 días, mostraron una reducción marcada en  $G_s$ . En este tratamiento la máxima de  $G_s$  se observó a las 9:00 h ( $35 \text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ).  $G_s$  varió durante todo el día entre  $15 \text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  y  $30 \text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Las plantas con menos estrés presentaron un mayor grado de  $G_s$ , el cual estaba entre 50 y  $60 \text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  hasta las 14:00 h declinándose gradualmente hasta  $35 \text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  entre 16:00-18:00 h (figura 1.C). La máxima de E para las plantas regadas cada 3 y 12 días fueron obtenidas a las 13:00 h ( $2.5 \text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), después de esto E disminuyó progresivamente a un valor menor que  $0,6 \text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Las plantas bastante estresadas (25 días sin agua) presentaron el E más bajo en cada medida ( $1,4 \text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  y  $0,5 \text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , valores máximos y mínimos respectivamente) (figura 1.D).

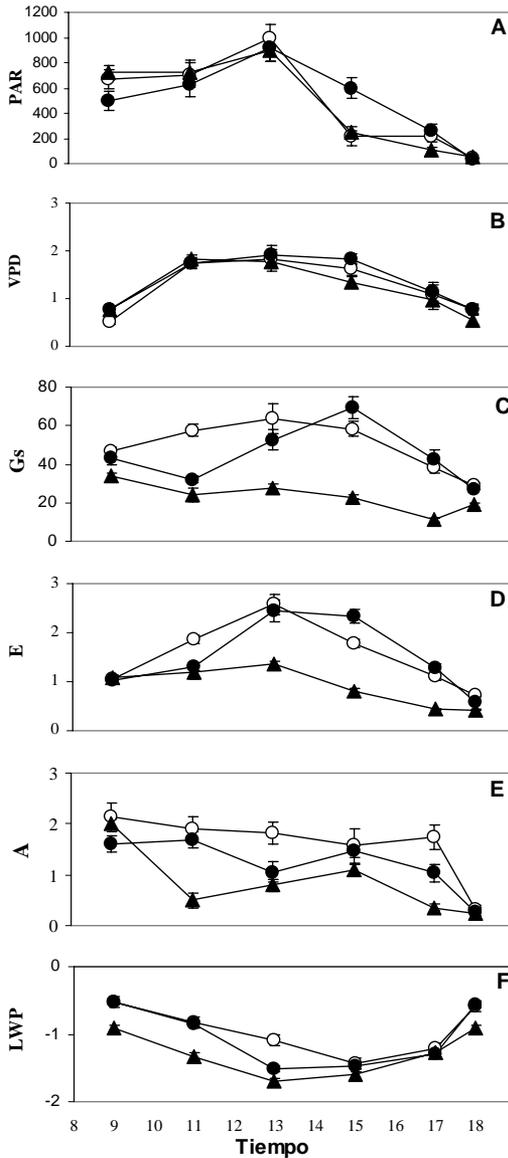
Los valores de la máxima de A fueron obtenidos temprano en la mañana (entre  $1,5$  y  $2,2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) en todos los tratamientos, disminuyendo progresivamente durante el día (figura 1.E). En general, los valores más bajos de A se obtuvieron a los 25 días de tratamiento durante el transcurso

del día. Al mediodía, el  $\Psi_L$  de las plantas que se encontraban sin agua durante 25 días, disminuyó hasta alcanzar  $-1,7 \text{Mpa}$ , mientras que las plantas regadas cada 12 y 3 días disminuyeron hasta alcanzar aproximadamente  $-1,4$  y  $-1,2 \text{Mpa}$  respectivamente (figura 1.F).

Las diferencias en la humedad del suelo se convirtieron en variaciones en el estatus del agua para los tres tratamientos, por ejemplo, una disminución en la mínima del potencial del agua de la hoja (cuadro 1). Adicionalmente, se observó un cierto grado de ajuste osmótico  $\Psi\pi^{100}$  y  $\Psi\pi^0$  disminuyó al mismo tiempo que el estrés del agua se hizo más severo (cuadro 1).

Debido a que el estrés de agua incrementó, se observó un aumento significativo en las conductancias de la hoja (cuadro 2). Esta reducción en la apertura de estomas de los tratamientos condujo a una menor tasa de asimilación y transpiración para las plantas estresadas. La mayor tasa de asimilación fue obtenida de plantas regadas cada tres días, a pesar de los valores menores de PAR. Sería interesante destacar que la asimilación de las tasas de  $\text{CO}_2$  son significativamente altas si se considera que los valores PAR se encuentran por encima de  $800 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (cuadro 2).

Los WUE más integrados se obtuvieron de plantas estresadas, de 25 días de tratamiento ( $1,19 \text{mmol mmol}^{-1}$ ). Los valores para los otros tratamientos fueron menores ( $0,98$  y  $1,05 \text{mmol mmol}^{-1}$ ). Por el contrario, los valores  $A_{\text{tot}}$  y  $E_{\text{tot}}$  fueron menores al mismo tiempo que



**Figura 1.** Ciclo diario de: A. Radiación fotosintéticamente activa (PAR,  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), B. Diferencia de la presión de vapor del aire de la hoja (VPD, KPa), C. Conductancia estomática ( $G_s$ ,  $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), D. Tasa de transpiración (E,  $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), E. Tasa de asimilación de  $\text{CO}_2$  (A,  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) y F. Potencial de agua de la hoja (LWP,  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) para plantas de cacao de 4 años de edad regadas cada 3 (O), 12 (●) y 25 días (▲). Las barras representan un valor promedio.

**Cuadro 1. Mínima del potencial de agua de la hoja ( $\Psi_{\min}$ , MPa), potencial osmótico lleno de turgor ( $\Psi_{\pi}^{100}$ , MPa), potencial osmótico con pérdida de turgor ( $\Psi_{\pi}^0$ , MPa) y humedad del suelo (SM, %) para los tres tratamientos de agua en plantas de cacao. Los valores son medianas de seis hojas con  $\pm$  con un error promedio.**

Tratamiento	$\Psi_{\min}$	$\Psi_{\pi}^{100}$	$\Psi_{\pi}^0$	SM
3 días	-1,4	-1,54 $\pm$ 0,10	-1,85 $\pm$ 0,13	17,31
12 días	-1,5	-1,95 $\pm$ 0,35	-2,48 $\pm$ 0,31	13,60
25 días	-1,7	-2,18 $\pm$ 0,29	-2,53 $\pm$ 0,42	9,71

**Cuadro 2. Mediana de la radiación fotosintéticamente activa (PAR,  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), tasa de asimilación de  $\text{CO}_2$  (A,  $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), tasa de asimilación de PAR por encima de  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  ( $A_{>800}$ ), tasa de transpiración (E,  $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) y conductancia estomática ( $G_s$ ,  $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) para los tres tratamientos de riego. Los valores son medianas de dos días con  $\pm$  un error promedio (n=13).**

Tratamiento	PAR	A	$A_{>800}$	E	$G_s$
3 días	355,8 $\pm$ 31,8	1,57 $\pm$ 0,11	3,51 $\pm$ 0,08	1,38 $\pm$ 0,05	46,5 $\pm$ 1,50
12 días	416,3 $\pm$ 33,5	1,25 $\pm$ 0,06	3,24 $\pm$ 0,05	1,33 $\pm$ 0,05	33,1 $\pm$ 0,38
25 días	483,4 $\pm$ 35,5	1,06 $\pm$ 0,07	2,38 $\pm$ 0,04	0,85 $\pm$ 0,03	24,0 $\pm$ 0,08

incrementó el estrés de agua (cuadro 3). El total de la asimilación de  $\text{CO}_2$  disminuyó 11 y 26%, mientras que una reducción de 18 y 39% en la pérdida de

agua a través de la transpiración se encontró a los 12 y 25 días de frecuencia de riego respectivamente.

## Discusión

Las condiciones de sombras ofrecidas para los árboles *E. Poeppigiana* y las plantas de plátano redujeron los valores de PAR en un promedio alrededor de 700 y 1000  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  comparado con el 2000  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  aproximadamente, registrado para el campo abierto. La sombra prevee grandes evaporaciones del suelo, y reduce la

tasa de transpiración de la hoja, por lo tanto, se necesita una gran cantidad de agua para períodos más largos. En la misma área, y con el mismo tipo de suelo Jaimez *et al.* (11) usando una frecuencia de riego de nueve días en plantaciones de *Capsicum chinense*, reportaron un contenido de agua de la humedad del suelo de 9-11%.

**Cuadro 3. Asimilación total diaria ( $A_{\text{tot}}$ ,  $\text{mmol m}^{-2}$ ), transpiración ( $E_{\text{tot}}$ ,  $\text{mol m}^{-2}$ ) y eficiencia del uso de agua (WUE,  $\text{mmol CO}_2/\text{mol H}_2\text{O}$ ) para los tres tratamientos de riego en las plantas de cacao tipo Guasare.**

Tratamiento	$A_{\text{tot}}$	$E_{\text{tot}}$	WUE
3 días	53,1	54,0	0,98
12 días	47,0	44,5	1,06
25 días	39,5	33,3	1,19

La reducción en la intensidad de la luz pudiese explicar el bajo contenido de la tasa de asimilación de  $\text{CO}_2$  en la investigación, una vez que se obtuvieron tasas de asimilación que estuvieron alrededor de 2,4 y 3,5  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  con valores de PAR por encima de 800  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . La tasa de asimilación de  $\text{CO}_2$  en plantas no estresadas en el presente estudio, fueron menores comparadas con las reportadas por Galyuon *et al.* (9), la cual estuvo alrededor de 3,5 y 4  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , en Premachandra y Joly (19) entre 4,3 y 5.2  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  y Joly y Hahn (14) entre 2,7 y 3,7  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ .

Un rápido ajuste osmótico se observó a los 3 y 12 días (diferencia de Mpa de 0,63). Este mecanismo permite que el tipo de cacao Guasare mantenga un turgor bajo condiciones desfavorables, principalmente al mediodía cuando aumenta la demanda de la evaporación del agua. Es importante mencionar que transcurridos 12 días, pareciera que la especie no está en la capacidad para realizar ajustes osmóticos. Estos resultados difieren con los resultados obtenidos en plantas jóvenes de cacao, donde el ajuste osmótico no actúa como un mecanismo fisiológico para adaptarse duran-

te el período de deficiencia del agua (19). Por otra parte, a pesar que el ajuste osmótico incrementó al tiempo que se intensificaba el déficit del agua entre los días 3 y 12, las tasas de asimilación  $\text{CO}_2$  no se mantuvieron en el mismo nivel, debido al cierre parcial estomático. Resultados similares han sido obtenidos para las plantas de café (1, 16). Además, el estrés severo de déficit de agua produce un cierre estomático, el cual seguramente afecta otros procesos fisiológicos como por ejemplo a la fotosíntesis (7, 15).

Los valores más bajos de  $\Psi\pi^{100}$  encontrados, con una reducción en la frecuencia de riego difieren de aquellos reportados por Premachandra y Joly (1991). Estos autores encontraron resultados similares 14 días después en plantas jóvenes de cacao privadas de agua. Sin embargo, una reducción progresiva en  $\Psi\pi^{100}$  se reportó 18 días después. Estos autores también reportaron un promedio de 80% de reducción en la asimilación de  $\text{CO}_2$  una vez transcurridos 14 días.

La reducción de la asimilación de  $\text{CO}_2$  también está asociado con el cierre parcial estomático, el cual se mantuvo a lo largo del día en plantas privadas de agua durante 25 días. La

reducción en la apertura estomática se relacionó al gran déficit de agua. El cierre estomático redujo a un grado bastante significativo la pérdida de agua a través de la transpiración, comparado con lo efectos de la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>. Joly y Hahn (13) reportaron que no hubo incremento en WUE al tiempo que se intensificó el déficit de agua, a pesar que

el CO<sub>2</sub> y la tasa del intercambio de vapor del agua experimentó grandes cambios. En la presente investigación, los valores de WUE incrementaron al tiempo que el período de sequía fue más severo. Esto soporta la idea de que las pérdidas de agua es más severa que en la asimilación de CO<sub>2</sub> en estas plantas.

## Agradecimiento

El grupo de trabajo agradece a la Estación Experimental del INIA en San Juan de Lagunillas (Mérida, Venezuela) por su ayuda económica. El equipo agradece muy especialmente a la Sra. Gladis Ramos, Directora de

la Estación, por su ayuda. Esta investigación está cofinanciada por FONACIT con el número de proyecto (#96001-500) y por CDCHT-ULA con el número de proyecto (#FO-499-99B).

## Literatura citada

1. Almeida A.A.F. y M. Maestri. 1997. Photosynthetic oxygen evolution by four *Coffea arabica* genotypes subjected to a dehydration/rehydration cycle. *J. Hort. Sci.* 72: 593-599.
2. Alvim P. de T. 1977. Cacao. p. 279-313. *In*: P de T Alvim, and T.T. Kozlowski (Eds.), *Ecophysiology of tropical crops*. New York, Academic Press.
3. Alvim P. de T. 1981. Recent studies on environmental physiology of cacao. p. 85-89. *Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Cacao Research Conference*, Lagos, Kenya.
4. Balasimha D. 1999. Stress physiology of cocoa. *J. Plantation Crops* 27: 1-8.
5. Balasimha D. y V. Rajagopal. 1988. Stomatal responses of cocoa (*Theobroma cacao*) to climatic factors. *Indian J. Agric. Sci.* 58: 213-216.
6. Balasimha D., E.V. Daniel y P.G. Bhat. 1991. Influence of environmental factors on photosynthesis in cocoa trees. *Agric. Forest Meteorology* 55: 15-21.
7. Deng X., R. Joly y D. Hahn. 1990. The influence of plant water deficit on distribution of <sup>14</sup>C-labelled assimilates in cacao seedlings. *Ann. Bot.* 66: 211-217.
8. Frimpong E., Y. Adu-Ampomah y A. Karimu. 1996. Efforts to breed for drought resistant cacao in Ghana. p. 24-25. *Proceedings of the 12th International Cacao Research Conference*, Bahia, Brasil.
9. Galyoun I.K.A., C.R. McDavid, F.B. López y J.A. Spence. 1996. The effect of irradiance level on cacao (*Theobroma cacao* L.): II Gas exchange and chlorophyll fluorescence. *Trop. Agric.* 73: 29-33.
10. Hadley P y S. Pearson. 1996. A physiologist's view of cacao yield. p. 194-209. *Proceedings of the*

- Malaysian International Cacao Conference, Kuala Lumpur, Malaysia.
11. Jaimez R., F. Rada y C. Garcia-Nuñez. 1999. The effects of irrigation frequency on water and carbon relations in three cultivars of sweet pepper (*Capsicum chinense*, Jacq) in a tropical semiarid region. *Sci. Hortic.* 81: 301-308.
  12. Joly R. 1987. Physiological adaptations for maintaining photosynthesis under water stress in cacao. p. 199-203. Proceedings of the 10th International Cacao Research Conference, Santo Domingo, Dominican Republic.
  13. Joly R. y D. Hahn. 1989a. Net CO<sub>2</sub> assimilation of cacao seedlings during periods of plant water deficit. *Photosynth. Res.* 21: 151-159.
  14. Joly R. y D. Hahn. 1989b. An empirical model for leaf expansion in cacao in relation to plant water deficit. *Ann. Bot.* 64: 1-8.
  15. Kaiser W.M. 1982. Correlation between changes in photosynthetic activity and changes in total protoplasm volume in leaf tissue from hydro-meso and xerophytes under osmotic stress. *Planta* 153: 430-435.
  16. Kumar D. y L.L. Tieszen. 1980. Photosynthesis in *Coffea arabica*. II. Effects of water stress. *Exp. Agr.* 6: 21-27.
  17. McCree K.J., C.E. Kallsen y S.G. Richardson. 1984. Carbon balance in sorghum plants during osmotic adjustment to water stress. *Plant Physiol.* 76: 898-902.
  18. Ochoa G. y D. Malagón. 1979. Atlas de microscopía electrónica en suelos de Venezuela. ULA - CIDIAT. Mérida, 40 p.
  19. Premachandra G. y R. Joly. 1991. Leaf water relations, net CO<sub>2</sub> assimilation stomatal conductance and osmotic concentration as affected by water deficit in cacao seedlings. p. 1-8. Proceedings of the International Cacao Research Conference, Kuala Lumpur, Malaysia.
  20. Rada F., A. Azócar, B. Briceño, J. González y C. García-Núñez. 1996. Carbon and water balance in *Polylepis sericea*, a tropical treeline species. *Trees* 10: 218-222.
  21. Tyree M. y H. Hammel. 1972. The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressure bomb technique. *J. Exp. Bot.* 23: 267-282.
  22. Tyree M. y H. Richter. 1981. Alternative methods of analyzing water potential isotherms: some cautions and clarifications. *J. Exp. Bot.* 32: 643-653.