# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

### **DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**



Respuesta al Estrés de Plántulas de Trigo (<u>Triticum aestivum L.</u>) y Lechuga (<u>Lactuca sativa L.</u>) Originadas de Semillas Irradiadas

Con Láser de Baja Intensidad

Por:

#### **JULIA GARNICA SERNA**

**TESIS** 

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México Febrero del 2004

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

### **DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**



Respuesta al Estrés de Plántulas de Trigo (Triticum aestivum L.) y Lechuga Lactuca sativa L.) Originadas de Semillas Irradiadas Con Láser de Baja Intensidad

Por:

JULIA GARNICA SERNA

**TESIS** 

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

#### Febrero del 2004

## UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

#### DIVISIÓN DE AGRONOMÍA DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Respuesta al Estrés de Plántulas de Trigo (<u>Triticum aestivum L.</u>) y Lechuga <u>Lactuca</u> <u>sativa</u> L.) Originadas de Semillas Irradiadas Con Láser de Baja Intensidad

#### **TESIS**

Presentada por:

#### **JULIA GARNICA SERNA**

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

## INGENIERO AGRONÓMO EN HORTICULTURA APROBADO POR:

	Benavides Mendoza r Principal
Dr. José Hernández Dávila Sinodal	<b>Dr. Valentín Robledo Torres</b> Sinodal
	rio Quezada Martín or Externo

M.C. Arnoldo Oyervides García Coordinador de la División de Agronomía

### Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, Febrero del 2004 **INDICE GENERAL**

	Pag
DEDICATORIAS	
AGRADECIMIENTOS	
INDICE DE CUADROS	i
INDICE DE FIGURAS	ii
RESUMEN	iii
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
HIPÓTESIS	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Generalidades del cultivo	4
Trigo	4
Origen	4
Descripción Botánica	4
Valor nutritivo	5
Lechuga	5
Origen	5
Clasificación Taxonómica	6
Descripción Botánica	6
Valor nutritivo	7
Definición de Láser	7
Estrés ambiental	8
Definición de estrés	9
Estrés salino	9
Efectos del estrés salino en las plantas	10
Generalidades de los estomas	12
Estomas	12
Posición de los estomas en las hojas	12

Densidad estomática	13
MATERIALES Y METODOS	14
Localización del sitio experimental	14
Descripción del sitio experimental	14
Descripción de materiales	14
Material vegetativo	14
Material de campo	14
Material de laboratorio	15
Descripción de tratamientos	16
Diseño experimental	16
Establecimiento del experimento	17
Cronología del experimento realizado en Trigo	17
Preparación de la solución salina	17
Germinación de las semillas en cajas petri	17
Siembra en charolas de las semillas germinadas	17
Obtención de impresiones estomáticas	18
Cronología del experimento realizado en Lechuga	18
Germinación de las semillas en cajas petri	18
Siembra en charolas de las semillas germinadas	18
Transplante a maceta de las plántulas	19
Obtención de impresiones estomáticas	19
Control fitosanitario en trigo y lechuga	19
VARIABLES EVALUADAS	20
Experimento realizado en Trigo	20
Número de semillas germinadas	20
Biomas	20
Densidad estomática	20
Experimento realizado en Lechuga	21
Número de semillas germinadas	21
Densidad estomática y células tabloides	21
Índice estomático	21

	Biomasa	21
	Porciento de proteína y nitrógeno	21
	Porciento de grasas	22
	Porciento de cenizas	23
	Porciento de fibra cruda	23
RESULTADO	OS Y DISCUSIÓN	25
	Experimento realizado en Trigo	25
	Número de semillas germinadas	25
	Biomasa	26
	Densidad estomática	27
Experi	mento realizado en Lechuga	30
	Número de semillas germinadas	30
	Biomasa	32
	Densidad e índice estomático y células tabloides	33
	Porciento de proteína	34
	Porciento de grasas	34
	Porciento de fibra cruda	34
CONCLUSIO	DNES	37
REFERENCI	AS BIBLIOGRAFICAS	38
APÉNDICE		

#### **INDICE DE CUADROS**

Cuadro		Pág
1	Valor nutritivo del trigo ( <i>Triticum aestivum</i> L.)	5
2	Valor nutritivo de la lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> L.)	7
3	Composición de la solución nutritiva Hoagland	15
4	Tratamientos a evaluar en plántulas de Trigo y Lechuga	16
5	Valores promedio de la variable número de semillas germinadas en trigo ( <i>Triticum aestivum</i> L.), cuyas semillas fueron irradiadas y	
	sometidas a estrés salina	25
6	Valores promedio de la variable Biomasa en plántulas de Trigo ( <i>Triticum aestivum</i> L.) originadas de semillas irradiadas sometidas	
	a estrés salino	27
7	Valores promedio de la variable densidad estomática de plántulas de Trigo ( <i>Triticum aestivum</i> L.) originadas de semillas irradiadas	
•	sometidas a estrés salino	28
8	Valores promedio en la interacción en la variable densidad de	
	estomas en plántulas de trigo ( <i>Triticum aestivum</i> L.) originadas de semillas irradiadas con laseres de baja intensidad y sometidas a	
	estrés salino	29
9	Valores promedio de la variable número de semillas germinadas de	25
Ü	lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> L.), cuyas semillas fueron irradiadas con laseres de baja intensidad y sometidas a estrés salino	31
10	Valores promedio de la interacción en la variable número de	31
10	semillas germinadas de lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> L.) irradiadas con laseres de baja intensidad y sometidas a estrés salino	31
11	Valores promedio de la variables biomasa en plántulas de lechuga	01
• •	( <i>Lactuca sativa</i> L.) originadas de semillas irradiadas sometidas a	
	estrés salino	32
12	Valores promedio de la interacción en la variable biomas del peso	
	seco de la raíz en plántulas de lechuga (Lactuca sativa L.)	
	originadas de semillas irradiadas con laseres de baja intensidad	33
13	Valores promedio de las variables densidad e índice estomático y	
	células tabloides en plántulas de lechuga (Lactuca sativa L.)	
	originadas de semillas irradiadas sometidas a estrés salino	34
14	Valores promedio de las variables porciento de proteína, grasas,	
	nitrógeno, cenizas y fibra cruda en plántulas de lechuga (Lactuca	
	sativa L.) originadas de semillas irradiadas sometidas a estrés	35
	salino	

#### **INDICE DE FIGURAS**

Figura		Pág
1	Respuesta del contenido de grasa en plántulas de lechuga	
	originadas de semillas irradiadas sometidas a estrés salino	35
2	Respuesta del contenido de nitrógeno en plántulas de lechuga	
	originadas de semillas irradiadas sometidas a estrés salino	36
3	Respuesta del contenido de cenizas en plántulas de lechuga	
	originadas de semillas irradiadas sometidas a estrés salino	36

#### RESUMEN

El presente trabajo de investigación se inicio en Junio del 2002 y se termino en Enero del 2003. Se llevo a cavo en el invernadero de vidrio del Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada al sur de la ciudad de Saltillo, Coahuila, México. Con el objetivo de determinar si la irradiación de semillas de trigo y lechuga con un láser de baja intensidad modifica la germinación en un medio salino, el crecimiento y morfología de las plántulas.

Se aplicaron cuatro tratamientos de irradiación  $(0, 0.3, 0.6 \text{ y } 1.2 \text{ J cm}^{-2})$  con un láser de AsAlGa ( $\lambda$ =650 nm, y una potencia de 30 mW) por 60 segundos. Posteriormente a la irradiación las semillas fueron germinadas a temperatura ambiente en un medio salino de 0, 60, 120 y 180 mM de NaCl y trasferidas a charolas germinadoras en el invernadero.

En las plántulas de trigo se determinó la biomasa y la densidad estomática adaxial y abaxial. Para el número de semillas germinadas no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. En la biomasa de la raíz de las plántulas originadas de semillas irradiadas aumentó significativamente con el tratamiento de 0.6 J cm<sup>-2</sup>, mientras que la biomasa aérea no mostró cambios. Sin estrés salino la densidad estomática en aquellas plántulas originadas de semillas irradiadas aumentó significativamente en el mismo tratamiento de 0.6 J cm<sup>-2</sup>, en cambio bajo estrés salino la densidad estomática de las plántulas originadas de semillas irradiadas fue disminuida por la irradiación de las semillas.

Se concluyó que la germinación de las semillas de trigo en medio salino no fue modificada por la irradiación, mientras que el crecimiento y morfología de las plántulas si fue modificado por la irradiación de la semilla.

En las plántulas de lechuga se determinó la biomasa, la densidad de estomas y células tabloides adaxial y abaxial, el contenido de proteína, lípidos, nitrógeno (N), cenizas y fibra cruda. El número de semillas germinadas mostró diferencia estadísticamente significativa para aquellas que no fueron sometidas a estrés salino. La biomasa aérea y de la raíz en las plántulas originadas de semillas irradiadas aumentó significativamente con el tratamiento 0.6 J cm<sup>-2</sup>. La densidad de estomas y células tabloides abaxial y adaxial de las plántulas originadas de semillas irradiadas bajo estrés salino disminuyó por la irradiación de la semilla. El contenido de proteína, lípidos, nitrógeno (N) y cenizas fue disminuido en las plántulas originadas de semillas irradiadas sometidas a estrés salino.

Por lo que se puede concluir que la germinación de las semillas de lechuga sometidas a estrés salino es disminuida por la irradiación con láser AsAlGa. El crecimiento y morfología de las plántulas de lechuga provenientes de semillas irradiadas y sometidas a estrés salino también es modificado por la irradiación de la semilla. También se puede decir que el contenido de proteína, lípidos, nitrógeno (N) y cenizas es modificado por la irradiación de las semillas ya que fue más bajo que en las semillas que no fueron irradiadas.

#### INTRODUCCIÓN

En la producción de alimentos, los básicos y las hortalizas son parte importante de la dieta humana, así como de generación de empleos y divisas para el país impactando en la economía mexicana.

El trigo (*Triticum aestivum* L.) es el cereal más importante por su creciente consumo y su amplio rango de adaptación, ocupando el primer lugar en el ámbito mundial tanto en superficie cosechada como en producción, debido a que es usado como forraje para la ganadería y como componente esencial en la dieta de la población, además es un producto básico que contribuye a el desarrollo de la economía nacional. Desde hace algunas décadas se ha venido observando un aumento en el consumo, por el crecimiento acelerado de la población y por la diversificación de su alimentación.

La producción mundial en el ciclo de 1999 a 2000 fue de 585.59 millones de toneladas, sin embargo del 2002 al 2003 la producción descendió a 565.48 millones de toneladas con un rendimiento promedio mundial de 8 ton.ha<sup>-1</sup> y una superficie mundial cultivada de 25.41 millones de hectáreas. Entre los países que más producen trigo están: La Unión Europea, Estados Unidos de América, China, Canadá, Australia y Argentina, siendo China el principal productor de trigo con un promedio anual de 130-145 millones de toneladas. En México la superficie sembrada durante el ciclo otoño-invierno 2002-2003 fue de 544,510 ha, con una producción de 2,751,256 toneladas y un rendimiento promedio por ha de 5.193 toneladas siendo Guanajuato, Baja California Norte, Chihuahua y Coahuila los principales productores en el país.

Por otro lado el mundo de las hortalizas es básico en la gastronomía de cualquier país o cultura. Dentro de éstas la lechuga ha sido pieza fundamental del arte culinario, por su utilización en todo tipo de comida, aunado a la gran demanda

que tiene en la época actual por sus características de alto valor nutritivo y equilibrio orgánico, además como el resto de las hortalizas, es un buen abastecedor de vitaminas, minerales y sales indispensables para el organismo.

Su importancia radica en que prospera en todos los climas templados del mundo, adaptándose a los climas cálidos y fríos, teniendo producción cualquier época del año, además de generar empleos y divisas para el país.

En 1997 México reporta una superficie cultivada de 9,379 ha, mientras que del 2002 al 2003 se reportan 5,806 has sembradas con una producción de 116,061 toneladas y un rendimiento por ha de 20.781 toneladas, siendo Puebla el principal productor con una superficie de 2,574 ha y con un rendimiento de 22.07 ton.ha<sup>-1</sup>, seguido por Guanajuato, Baja California, San Luis Potosí y Zacatecas entre otros.

Sin embargo la producción de alimentos en México como muchos otros países se ve influenciada por los problema del estrés ambiental, fuerte restricción a la que se enfrentan los productores y que limita la productividad de los cultivos en las regiones áridas y semiáridas.

El problema del estrés por la salinidad del suelo se ve fuertemente incrementada en regiones áridas, por la acumulación de sales solubles en el agua que son transportadas y depositadas en la superficie cuando esta se evapora, en donde la tasa anual de evaporación del suelo supera la cantidad de agua proveniente de las precipitaciones. Otro caso en donde se acumulan las sales en el suelo ocurre cuando se utilizan riegos intensivos en suelos con drenaje deficiente. Además de una mala intemperización del material primario y la presencia de niveles freáticos cercanos a la superficie del suelo.

El presente trabajo de investigación, pretende buscar una técnica que minimice los problemas de estrés salino de las plántulas en etapa de post-transplante, originados por una alta concentración de sales en el suelo y al mismo tiempo, ser un resumen actualizado de los avances ocurridos en los últimos años

en relación con las respuestas de adaptación y resistencia de las plantas frente al estrés salino.

Por otro lado existe muy poca investigación sobre los efectos en la utilización de rayos láser de baja intensidad en los efectos de estrés y hasta el momento no se dispone de información acerca de la aplicación de la irradiación con un láser de baja intensidad en plantas, sobre todo en lo relativo a la tolerancia a estrés salino. Por otra parte, no existe información acerca de cómo es modificada la anatomía y morfología de plántulas o semillas irradiadas.

De resultar efectiva la aplicación de la irradiación en semillas esta tecnología puede potencialmente convertirse en una alternativa económica para el manejo del estrés en diferentes especies. Por lo que el presente trabajo se planteó con los siguientes objetivos.

#### **OBJETIVOS**

Determinar si la irradiación de las semillas de trigo y lechuga con un láser de baja intensidad modifica la germinación en un medio salino.

Determinar si la irradiación de semillas de trigo y lechuga modifica el crecimiento y morfología de las plántulas.

#### **HIPÓTESIS**

La irradiación de semillas con un láser de baja intensidad modificada la germinación, el crecimiento y morfología de la planta al ser sometidas a un medio salino.

#### **REVISIÓN DE LITERATURA**

#### Generalidades del Cultivo

#### Trigo

**Origen.** El origen del actual trigo cultivado se encuentra en la región asiática comprendida entre los ríos Tigris y Eufrates, habiendo numerosas gramíneas silvestres comprendidas en esta área y están emparentadas con el trigo. Desde Oriente Medio el cultivo del trigo se difundió en todas las direcciones. Las primeras formas de trigo recolectadas por el hombre hace más de doce mil años eran del tipo *Triticum monococcum* y *T. dicoccum*, caracterizadas fundamentalmente por tener espigas frágiles que se disgregan al madurar.

**Descripción Botánica.** Según Poehlman (1986) citado por Escalante (1991) el trigo (*Triticum aestivum* L) pertenece a la familia de las gramíneas (*Poeceae*), siendo las variedades más cultivadas *Triticum durum* y *T. compactum*.

Es una planta herbácea anual de 0.5 a 2.0 m de altura. Consta de un rizoma con varios tallos huecos (caña), hojas axilares cintiformes, paralelinervias y terminadas en punta, que pueden crecer alrededor de 1 m de altura. El número de tallos varía según el cultivar, densidad y profundidad de siembra y en general de las condiciones ambientales. Cada tallo presenta de cinco a seis nudos de los cuales sólo tres o cuatro desarrollan hojas, debido a que los nudos inferiores son a menudo muy cortos y frecuentemente quedan debajo de la superficie del suelo. El nudo superior contiene la hoja bandera y la inflorescencia. Cada tallo produce una inflorescencia, la cual es un denso sistema de ramificación. La espiga, como se le conoce a la inflorescencia, es una espiga compuesta de un tallo central de entrenudos cortos llamado raquis, en cada uno de cuyos nudos se asienta una espiguilla protegida por dos brácteas más o menos coriáceas o glumas a ambos

lados. Tiene su unidad básica en la espiguilla, dentro de ésta nacen las flores. Cada espiguilla presenta nueve flores, de las cuales aborta la mayor parte, quedando dos, tres, cuatro y a veces hasta seis flores. Las flores constan de un pistilo y tres estambres. Están protegida por dos brácteas verdes o glumillas, la exterior se prolonga en una arista en los trigos barbados. La planta de trigo presenta un sistema radicular difuso, el cual consta de raíces adventicias que se ramifican hasta formar varias órdenes de raicillas. Algunas raíces se extienden de 30 a 35 cm horizontalmente; otras crecen diagonalmente y hacia abajo unos 30 cm; pocas raíces crecen después de este límite, son menos ramificadas y alcanzan hasta 150 cm de profundidad. Su fruto es una cariopsis con el pericarpo soldado al tegumento seminal. El endospermo contiene las sustancias de reserva, constituyendo la masa principal del grano. (Lersten, 1987; Cook y Veseth, 1991).

<u>Valor nutritivo.</u> En la siguiente tabla se muestra el porcentaje de nutrientes en su forma natural del grano de trigo.

Cuadro 1. Valor nutritivo del trigo (Triticum aestivum L.).

NUTRIENTES	%
Carbohidratos	70
Proteínas	16
Humedad	10
Lípidos	2
Minerales	2

#### Lechuga

**Origen.** La Lechuga (*Lactuca sativa L*) se considera nativa de Europa y Asía Thompson y Kelly (1959), mencionan que procede de la especie silvestre *Lactuca seerriola* L. clasificada como una maleza y difundida ampliamente en el centro y sur de Europa, así como en la región sur de Rusia.

Por más de 2000 años se a cultivado *L. sativa* var. Capitata, la cual es una lechuga que se divide a su vez en crispillas y entre estas se encuentran la de cabeza crujiente (Crisheat ó Iceberg) y Mantecosa (Butterhead); las crispillas presentan cogollos firmes, por la posición compactada de sus hojas rizadas, de nervio central fuerte, siendo los cultivares más típicos: Great Lakes, Salinas, Vanguard Shilo y Climax (Vega 1997).

#### Clasificación Taxonómica.

Clase: Dycotyledoneae Familia: Compositae

Genero: Lactuca Especie: Sativa

Variedad Botánica: Capitata (Cabeza)

Longifolia (Romana ó Cos)

Crispa (Hoja) Asparagina (Tallo)

**<u>Descripción botánica.</u>** La lechuga es una planta dicotiledónea perteneciente a la familia de las compuestas de tipo herbáceo anual que cuenta con un sistema radicular profundo y poco ramificado, presenta una raíz pivotante la cual logra alcanzar una profundidad de 1.80 m, encontrándose la mayor parte del sistema radicular en los primeros 60 cm; con un tallo que se caracteriza por ser muy corto, comúnmente de 10 a 15 cm de longitud cubierto por las hojas, en apoca de floración se desarrolla y alcanza alturas de 50 cm, el cual presenta una inflorescencia en forma de copa que puede alcanzar de 60 a 120 cm de altura dependiendo de la variedad; sus hojas son grandes, blandas, ovales, y se disponen principalmente en una roseta y después se aprietan unas con otras formando un cogollo consistente y compacto, son lisas, sin pecíolos y el extremo puede ser redondeado o rizado y el limbo es entero y dentado. Su color va del verde amarillo hasta el morado claro dependiendo el cultivar; su semilla son deprimidas, alargadas, más notablemente aguzadas del lado del hilo que del ápice, son de color blanco plateado, pardo, castaño obscuro dependiendo de la variedad, con finas aristas alo largo (Wesver y Buner, citado por Martínez, 1997; Leran, 1975; Valadez, 1996).

<u>Valor nutritivo.</u> En la siguiente tabla se muestra el porcentaje de nutrientes en su forma natural de la lechuga.

Cuadro 2. Valor nutritivo de la lechuga (Lactuca sativa L.)

Valor nutricional de la lechuga en 100 g de sustancia		
Carbohidratos (g)	20.1	
Proteínas (g)	8.4	
Grasas (g)	1.3	
Calcio (g)	0.4	
Fósforo (mg)	138.9	
Vitamina C (mg)	125.7	
Hierro (mg)	7.5	
Niacina (mg)	1.3	
Riboflavina (mg)	0.6	
Tiamina (mg)	0.3	
Vitamina A (U.I.)	1155	

#### Definición de Láser.

El término LASER es acrónimo de Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation. Un láser es un dispositivo que produce un haz coherente de radiación óptica por medio de la transición energética de electrones, iones o moléculas hacia estados metaestables utilizando luz, descargas eléctricas u otros estímulos. La transición del estado metaestable hacia el estado basal normal es acompañado por la emisión de fotones que forman un haz coherente. La aplicación de laseres de alta intensidad es común en la electrónica, comunicaciones y cirugía. Por otra parte, el uso de láseres de baja intensidad (o láseres "fríos") es una técnica aplicada para modificar el comportamiento celular y molecular de diferentes tejidos vivos. Su aplicación más amplia es de carácter

médico (Giavelli *et al.*, 1998; Harazaki e Isshiki, 1997) aunque algunos reportes indican que su aplicación en plantas y plántulas aumenta el crecimiento y la tolerancia a ciertas enfermedades (Ouf y Abdel-Hady, 1999). Trabajos realizados reportan que la aplicación de laceres de He-Ne aumenta la germinación de todas las especies vegetales probadas (Ouf y Abdel-Hady, 1999; Koper *et al.*, 1999; Gladyszewska *et al.*, 1998a y 1998b; Podlesny y Koper, 1998). Asimismo Qi *et al.*, (2000) reportaron que las células del epicótilo de *Vicia faba* presentaron mayor tolerancia a la exposición a radiación UV después de la irradiación con un láser de baja intensidad de He-Ne.

La irradiación de semillas con láseres de baja intensidad da lugar a un incremento en la biomasa de las plantas (Ouf y Abdel-Hady, 1999; Ivanova y Stoyanova, 2000), en la producción de frutos (Gladyszewska *et al.*, 1998) en las propiedades mecánicas de las semillas de la siguiente generación (Koper *et al.*, 1999) o bien en la tolerancia a bajas temperaturas de las plántulas después de la germinación de las semillas irradiadas (Podleśny, 2001).

#### Estrés ambiental.

El estrés ambiental es una fuerte restricción para el aumento de la productividad y de la extensión de los cultivos. Se estima que únicamente un 10% de la superficie de tierra arable se encuentra libre de estrés. Cerca del 20% de la tierra presenta algún tipo de deficiencia o toxicidad mineral, 26% es afectada por estrés de sequía y 15% por congelación (Blum, 1988). Incluso bajo condiciones de producción protegida como invernaderos y túneles se presentan eventos de estrés biótico o abiótico que disminuyen la productividad y calidad de los cultivos.

Aunque los factores causantes de estrés en las plantas pueden ser muy diversos los más frecuentes se pueden agrupar en tres grupos principales que son; estrés edáficos, físicos o climáticos y biológicos. Dentro del estrés edáfico es posible considerar la falta o exceso de agua, deficiencias o excesos minerales y pH del suelo. Los principales factores del clima causantes de estrés, son; las bajas o altas

temperaturas, altas o bajas concentración de gases en el aire y altas o bajas intensidades de luz (Robledo *et al*, 2002).

#### Definición de estrés.

Conforme a lo descrito por Benavides (2002), se ha definido el estrés como una desviación significativa de las condiciones óptimas para la vida. Como respuesta a dicha desviación se inducen cambios en todos los niveles funcionales del organismo, pudiendo ser dichos cambios reversibles o permanentes. Aún si la condición de estrés es temporal, es normal que la vitalidad de la planta se vea disminuida entretanto se realizan los ajustes requeridos para la nueva situación. Si el estrés es demasiado intenso o si el período de acción es demasiado largo entonces los daños latentes se transforman en daño irreversible que puede afectar a la planta entera o partes de la misma.

En otras palabras **estrés** es el conjunto de respuestas bioquímicas o fisiológicas que definen un estado particular del organismo diferente al observado bajo un rango de condiciones óptimas". Asimismo, se aplicará el término **resistencia al estrés** para definir "la capacidad de un organismo para evitar los estímulos ambientales negativos o para permanecer bajo un estado particular de estrés sin que su fenotipo se vea modificado de manera significativa". En la definición anterior se considera que existe un estado fenotípico ideal, observado bajo condición óptima, al cual se le llama "norma" (Benavides, 2002).

#### Estrés salino.

Las plantas para su desarrollo requieren de sales minerales, sin embrago, en concentraciones elevadas pueden resultar toxicas y causantes de estrés, que desencadenan múltiples respuestas fisiológicas (Gossett et. al., 1994).

Durante la temporada de crecimiento las sales se acumulan en el dosel de las plantas; después de que las hojas mueren y caen al suelo para

descomponerse las sales que contenían son lavadas por la lluvia o los riegos y retornadas al suelo. La salinidad del suelo se ve incrementada fuertemente en regiones áridas en donde la tasa anual de evaporación del suelo supera la cantidad de agua proveniente de las precipitaciones (Maiti et al., 2002).

Otro caso en donde se acumulan las sales en el suelo, ocurre cuando se utiliza riego intensivo en el suelo con drenaje deficiente. Los suelos de regiones húmedas contienen predominante NaCl. En suelos de regiones áridas también llega a presentarse esta problemática, aunque lo más común en zonas áridas es la presencia de sales básicas como cloruros, sulfatos y bicarbonatos de sodio, magnesio y calcio. Dichos suelos tienen pH alto, alto contenido de yeso, cuando se humedecen son pegajosos y una vez seco se endurecen formando costras (Flowers, 1985).

Desde el punto de vista agronómico la salinidad se expresa en términos de la conductividad eléctrica (CE) en unidades de dS m<sup>-1</sup> (deciSiemens por metro equivalente a 1000: S cm<sup>-1</sup>) o mmhos cm<sup>-1</sup> (equivalente a 1 mS cm<sup>-1</sup>) (Grattan y Grieve, 1999). Como referencia, la CE del agua de mar es de 44 mS cm<sup>-1</sup>, (Epstein, 1983) y se recomienda que el agua de riego no rebasa 2 mS cm<sup>-1</sup>.

Desde el punto de vista fisiológico se expresa como concentración de sales en unidades milimolares (mM) y se utiliza entonces como referencia el efecto de una concentración particular sobre un proceso fisiológico.

#### Efectos del estrés salino en las plantas.

El problema central enfrentado por las plantas sometidas a alta concentración de sal es la retención osmótica de agua y efectos iónicos de toxicidad específicos sobre las proteínas del citoplasma y las membranas. El agua es retenida osmoticamente en las soluciones salinas de tal forma que conforme aumenta la concentración de sal el agua se encuentra cada vez menos disponible para la planta (Maiti et. al., 2002). La explicación en términos físicos es la siguiente: la energía libre del agua se conoce como potencial químico (Ψ); el agua

fluye espontáneamente desde un sitio de alta energía libre hacia uno de baja energía libre hasta que llega a un equilibrio termodinámico.

Considerando que el valor máximo de energía libre es el de agua pura  $(\Psi_0)$  y que cualquier adición de solutos disminuye la energía libre hasta un valor  $(\Psi_{-1})$  (en donde  $\Psi_{-1} < \Psi_0$ ), entonces el flujo espontáneo de agua se dará desde los sitios con menor cantidad de sales hacia los que presentan mayor concentración. La única forma en que el agua sea movilizada desde un sitio con  $\Psi_{-2}$  hacia uno con  $\Psi_{-1}$ , en donde  $\Psi_{-2} < \Psi_{-1}$ , es a través de transporte activo al invertir energía. Esto quiere decir que en un suelo salino el valor  $\Psi$  es muy bajo y la planta debería entonces invertir gran cantidad de recursos para extraer el agua del suelo. Es por ello que rebasado cierto umbral de concentración de sal la planta es entonces incapaz de extraer agua del suelo. La base de la respuesta celular conocida como ajuste osmótico, es precisamente la concentración de solutos no tóxicos en la célula, de tal forma que el valor  $\Psi$  de la célula disminuya y sea competitivo contra el presentado por la solución salina (Maiti et. al., 2002).

Normalmente la estructura proteica adecuada para ciertos fines se mantiene dentro de rangos apropiados de contenido de solutos en el agua de riego. Cuando el contenido de sales rebasa cierto umbral entonces la estructura del polipéptido se ve modificada disminuyendo o inhabilitando su función. Los sistemas enzimáticos de la glicólisis, el ciclo de Krebs y la fotofosforilación son especialmente sensibles a estos cambios conformacionales inducidos por el agua salina, resultando en una menor disponibilidad de energía menor adquisición de nutrientes minerales y en general en un retardo en el crecimiento de la plántula o la germinación de las semillas, (Larcher, 1995).

Como se mencionó, el efecto general de la salinidad es el reducir la tasa de crecimiento resultando ello en hojas más pequeñas, menor altura y en ocasiones en menor cantidad de hojas.

Las raíces también cambian su longitud y biomasa, aunque pueden ser más delgadas o más gruesas. Igualmente la tasa de maduración puede ser mayor o menor dependiendo de la especie (Maiti et. al., 2002).

#### Generalidades de los estomas.

Las hojas están cubiertas en ambos lados por una capa de células llamadas epidermis, a cual contiene numerosos poros conocidos como estomas y a pesar de su pequeño tamaño, estos constituyen una ruta muy eficiente para el intercambio gaseoso, que permite una perdida de agua en forma de vapor de las células foliares y se difunden con rapidez al aire más seco, y también explica la dinámica en la fijación de CO<sub>2</sub> atmosférico (Ray, 1985).

#### Estomas.

Los estomas son aperturas en la epidermis rodeadas por dos células oclusivas; mediante cambios de forma las células oclusivas controlan el tamaño de la apertura. Esta apertura conduce al interior de un amplio espacio intercelular llamado cámara subestomática, que continua con los espacios intercelulares del mesófilo (Esau, 1972).

#### Posición de los Estomas en las Hojas.

Los estomas se pueden encontrar en diferentes partes de la planta: en las partes florales (pétalos, sépalos), hojas, tallo, rizomas, etc. en plantas herbáceas, los estomas se presentan en ambas superficies foliares (envés y haz) aunque menciona también que la mayoría se presenta en la superficie abaxial (envés) (Willmer, 1983).

La cantidad de estomas presentes en la superficie adaxial (haz) en comparación con la abaxial (envés) es característica distintiva de diferentes especies. Las plantas con mayor número de estomas en el haz son llamadas epiestomáticas, las que tienen mayor número en el envés son hipoestomáticas

(caso de la mayoría de las hortalizas), mientras que aquellas con un número aproximadamente igual de estomas en el haz y en el envés son ambiestomáticas (Gates, 1980).

Como se mencionó, el carácter epiestomática o hipoestomático se supone es una característica fija, pero fue demostrado que es susceptible de cambiar en ciertas etapas de crecimiento de la planta o en respuesta a estímulos ambientales (Piña, 1994).

#### Densidad estomática.

La frecuencia o densidad estomática, es el número de estomas por unidad de área (mm²), presenta un gran componente de variación ambiental, por lo que puede diferir entre plantas de la misma especie, entre hojas de la misma planta y entre sectores de una misma hoja (Esau, 1972).

El número de estomas es cerca de uno por cinco células (índice estomático) o de 100-450 por mm², aunque el número puede ser 10 veces mayor, se ha informado un máximo de 2,230 (Howard, 1969),sin embargo Roth (1976), informa que la densidad estomática varia entre 1,000 y 100,000 por cm² en plantas dicotiledóneas. El número de estomas es significativamente mas alto en la parte abaxial (abajo), que en la parte adaxial (superior) de la hoja (Nederhoff, 1994).

La densidad y tamaño de los estomas varia de acuerdo a la especie, a la variedad, a la posición de la hoja, a su crecimiento, a la intensidad de la luz, a la altura de la planta y al ambiente del cultivo (Kuruvadi, 1989).

Por su parte Willmer (1983) indica que los factores de desarrollo genético y ambientales se ven involucrados en la morfogénesis de los estomas. La disponibilidad de agua, la intensidad de la luz, la temperatura y la concentración de CO<sub>2</sub> se observan con frecuencia afectando la densidad estomática.

#### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### Localización del sitio experimental

El presente trabajo de investigación se realizó en el invernadero de vidrio del departamento de horticultura de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" (UAAAN), ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, cuyas coordenadas geográficas son: 25°22′′ latitud norte y 100°00′′ longitud oeste del meridiano de Greenwich a una altura de1742 msnm.

#### Descripción del sitio experimental

Su clima predominante y de acuerdo a la clasificación de Koepen es del tipo BW ho(x);(e) que corresponde a un clima semicálido seco con inviernos frescos, extremoso y verano cálido; la temperatura media anual es de 16.6°C con un régimen de lluvias intermedio entre verano e invierno, una precipitación media anual alrededor de 443 mm y una evapotranspiración promedio de 2167 mm.

#### Descripción de materiales

#### Material vegetativo.

Para el experimento uno se utilizaron semillas de trigo variedad *Suchi* homogéneas en tamaño, color y peso, con porcentaje de humedad de 7.56% y para el experimento dos se utilizo semilla de lechuga tipo orejona o de hoja suelta.

#### Material de campo.

Se utilizó como sustrato peatmoss Premier #3 para la siembra; cuatro charolas de poliestireno expandido de 200 cavidades para la siembra; camas flotantes hechas de madera y recubiertas con polietileno negro, como

contenedores para las charola; poliestireno para diluirlo con xileno y sacar las impresiones estomáticas; solución nutritiva Hoagland (Cuadro 1) en las camas flotantes durante el experimento para la nutrición de las plantas; se utilizaron también tres soluciones de NaCl a 60, 120 y 180 mM en un 1 Lt para someter las semillas a estrés salino durante la germinación en las cajas petri.

#### Material de laboratorio.

Se utilizó una estufa de aire caliente MAPSA modelo HDP334, para secar las muestras frescas; una balanza analítica digital OHAUSO modelo TS120 expresada en gramos, con capacidad máxima de 120 gramos, para pesar las plantas; cajas petri para la germinación de la semilla y portaobjetos para pegar las impresiones estomáticas.

Cuadro 3. Composición de la solución nutritiva Hoagland.

Nomenclatura	Gramos/Litro	Solución final (MI/L)
H <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	114.98	1
KNO <sub>3</sub>	101.11	6
Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	236.09	4
MgSO <sub>4</sub>	246.36	2
$H_3BO_3$	2.86	1
MnCl <sub>2</sub>	1.81	1
ZnSO <sub>4</sub>	0.22	1
CuSO <sub>4</sub>	0.08	1
$H_2MoO_4$	0.02	1
EDTA	0.22	

#### Descripción de tratamientos

Se estudiaron 16 tratamientos de irradiación a diferentes niveles de salinidad con cuatro repeticiones.

Cuadro 4. Tratamientos a evaluar en plántulas de trigo y lechuga.

TRATAMIENTOS	DESCRIPCIÓN	NIVELES DE SALES
1		0
2	Testigo	60
3	restigo	120
4		180
5		0
6	0.3 Jcm <sup>-2</sup>	60
7		120
8		180
9	0.6 Jcm <sup>-2</sup>	0
10		60
11	0.0 3011	120
12		180
13	1.2 Jcm <sup>-2</sup>	0
14		60
15		120
16		180

#### Diseño experimental

El diseño experimental utilizado fue un factorial completo con 4 tratamientos de irradiación, 4 tratamientos salinos y cuatro repeticiones. Sobre los datos se llevaron a cabo análisis de varianza y la prueba Tukey de comparación de medias.

#### Establecimiento del experimento.

En las semillas se aplicaron cuatro diferentes tratamientos de irradiación (0, 0.3, 0.6 y 1.2 J cm<sup>-2</sup>) empleando como fuente emisora un láser de AsAlGa (Arsénico-Aluminio-Galio) ( $\lambda$ =650 nm, potencia 30 mW). El tiempo de irradiación fue de 60 segundos.

#### Cronología del experimento realizado en Trigo.

#### Preparación de solución salina.

Se pesaron las cantidades correspondientes a cada concentración de NaCl así pues para 60mM se peso un equivalente a 3.505 gr, para 120 mM 7.011 gr y para 180 mM 10.5161 gr aforando a un 1 Lt.

#### Germinación de las semillas en cajas petri.

Las semillas de cada tratamiento láser fueron puestas a germinar en cajas petri con papel filtro previamente humedecido con solución de NaCl a 0, 60, 120 y 180 mM funcionando esta como medio salino de germinación a temperatura ambiente, colocando 18 semillas por caja. Pasados 3 días se contabilizó el número de semillas germinadas las cuales fueron transferidas a charolas germinadoras de poliestireno expandido en el invernadero.

#### Siembra en charolas de semillas germinadas.

La siembra de las semillas germinadas se llevó a cabo en charolas germinadoras de poliestireno expandido de 200 cavidades previamente llenas con peatmoss húmedo, colocando 10 semillas germinadas por cada repetición de las diferentes concentraciones de sales por cada tratamiento láser. Las charolas fueron puestas en camas flotantes agregando solución Hoagland a partir de los primeros 8 días hasta el termino del experimento.

#### Obtención de impresiones estomáticas.

Se tomaron 2 plantas al azar de las del centro de cada uno de los tratamientos de sales por cada tratamiento de irradiación, de cada una de las plantas se eligió la hoja más joven totalmente expandida, con dirección hacia el oriente.

En una caja petri se preparó una porción de resina con xileno y poliestireno hasta obtener una solución viscosa, luego con la yema del dedo índice se coloco una capa delgada sobre una superficie pequeña del haz y del envés de la hoja, se dejo que secara por unos segundos, luego se coloco un pequeño pedazo de cinta sobre la capa de resina y se despego cuidadosamente para hacer la extracción de la epidermis tanto del haz como del envés, colocando las muestras extraídas en un portaobjeto.

#### Cronología del experimento realizado en Lechuga.

#### Germinación de las semillas en cajas petri.

Las semillas fueron puestas a germinar el día 7 de Agosto del 2002, el procedimiento fue igual que para trigo. Pasados 3 días se contabilizaron el número de semillas germinadas, realizando tres conteos, los cuales se llevaron a cabo cada tercer día desde el 9 de Agosto al 15 de agosto del 2002.

#### Siembra en charolas de las semillas germinadas.

La siembra de las semillas germinadas se llevo a cabo conforme fueron germinando, fueron pasadas a charolas germinadoras de poliestireno expandido de 200 cavidades previamente llenas con peatmoss húmedo, se colocaron 10 semillas germinadas por cada repetición de las diferentes concentraciones de sales por cada tratamiento láser. Las charolas fueron puestas en camas flotantes

agregando solución Hoagland a partir de los primeros 8 días hasta el termino del experimento.

#### Trasplante a maceta de las plántulas.

El trasplante se realizo cuando las plantas tenían aproximadamente 15 cm de largo, las plantas fueron pasadas a bolsas de polietileno, previamente llenas de peatmoss húmedo.

#### Obtención de impresiones estomáticas.

El procedimiento de obtención de impresiones estomáticas se realizó de la misma manera que para el experimento uno.

#### Control fitosanitario en trigo y lechuga.

En el control de enfermedades durante el experimento no hubo mucho problemas, pero cabe mencionar que se presentaron algunos problemas de *Aspergillus* en la fase *de* germinación en cajas petri, tanto en trigo como en lechuga, debido a que la semilla no venía tratada, este problema se controló aplicando Captan a una concentración de 1.5 gr.Lt<sup>-1</sup> dos veces por semana.

También se presentó mosquita blanca (*Bemisia tabaci*) y pulgón (*Aphis spp*) en las plántulas de Lechuga (*Lactuca sativa* L) durante la etapa en maceta, los cuales se controlaron con Confidor.

#### VARIABLES EVALUADAS

#### Experimento realizado en trigo

#### Numero de semillas germinadas.

En esta variable se contabilizó el número de semillas germinadas a partir del tercer día de que fueron puestas a germinar.

#### **Biomasa**

Para estimar los valores de esta variable se realizaron dos muestreos en las plántulas con ocho días de diferencia, el primero se llevó a cabo 10 días después de la siembra en charolas el 4 de Julio del 2002 y el segundo fue realizado el 12 de Julio del 2002.

Se seleccionaron dos plántulas al azar de cada concentración de NaCl por cada tratamiento láser, se lavaron las raíces para quitar el sustrato adherido entre ellas. Se separo la parte foliar de la raíz y fueron pesadas por separado en una balanza analítica OHAUSO modelo TS120 expresada en gramos.

Una vez que fueron pesadas y se registro el peso fresco se colocaron en bolsas de papel de estraza y se metieron a la estufa a secar a una temperatura de 60°C, por tres días, previamente secas se volvieron a pesar para sacar peso seco.

#### Densidad estomática.

Para sacar la densidad estomática se llevó a cabo un conteo de estomas con un microscopio compuesto de la marca Rossbach, el conteo se realizó con el objetivo 40X en tres campos diferentes tanto en haz como para envés.

#### Experimento realizado en Lechuga

#### Numero de semillas germinadas.

En esta variable se contabilizó el número de semillas germinadas a partir del tercer día de que fueron puestas a germinar.

#### Densidad estomática y células tabloides.

Para sacar la densidad estomática y células tabloides adaxial y abaxial se llevó a cabo un conteo de estomas con un microscopio compuesto de la marca Rossbach, el conteo se realizó con el objetivo 40X en tres campos diferentes tanto en haz como para envés.

Para calcular el total de la densidad estomática se empleo la formula:

$$D.Estomática = \frac{No.Estomas}{área(mm^2)}$$

#### Índice estomático.

Para estimar el índice estomático adaxial y abaxial se tomaron los resultados del conteo de estomas y células tabloides mediante la siguiente formula:

$$I.Estomático = \frac{No.Estomas}{No.Estomás + No.Células.Tabloides}*100$$

#### Biomasa.

Se llevó a cabo 15 días después de que las plantas se pasaron a macetas. En esta variable el procedimiento fue igual que para el experimento uno.

#### Porciento de proteínas y de Nitrógeno.

Se determinó por el método Kjeldhal. Se utilizaron ocho matraces Kjeldhal y en cada uno se colocó 1 gramo de muestra molida, se le agrego una mezcla de selenio que actuó como catalizador y 6 perlas de vidrio, luego se le agrego 30 mL. de ácido sulfúrico concentrado. Posteriormente se colocó el matraz en el digestor Kjeldhal hasta que la muestra cambio de color café oscuro a verde claro. Se dejó que la temperatura del matraz bajará de 30-35 °C, para continuar.

Previamente en un matraz erlenmeyer con 50 mL de ácido bórico, se añadieron 6 gotas de indicador mixto y se colocaron las mangueras del digestor dentro del matraz. Se agita el matraz Kjeldhal con cuidado y se le agregan 110 mL de hidróxido de sodio al 45% y 6 granallas de zinc, luego se llevó al aparato de destilación Kjeldhal recibiendo la cantidad de 300 mL de solución en el matras erlenmeyer. La titulación se realizó con ácido sulfúrico 0.1 Normal hasta cambiar a un color rosa pálido (AOAC, 1980).

El porciento de proteína y de N se determinó con la formula:

$$\% proteina = \frac{mLgastadosH2SO4 - Blanco0.3(0.1)(0.014)x100}{gr.Muestra} = \% Nx6.25$$

#### Porciento de grasas.

Se determinó de acuerdo al método de Soxhlet, que consiste en la extracción de compuestos no polares por medio de calor.

Se colocaron ocho matraces bola de fondo plano en la estufa por 12 horas, trascurrido este tiempo se sacaron de la estufa y se colocaron en un desecador por 15 minutos hasta que se enfriaron.

En un papel filtro se pesaron 4 gr de muestra molida y se colocaron dentro de un dedal de asbesto, se les agregó 250 mL de solvente hexano y posteriormente se colocó con el Sifón Soxhlet y el dedal en la parrilla durante 16 hr, pasado este tiempo se retiró el dedal y se recuperó el solvente excedente, luego se colocaron los matraces en la estufa por 12 hr trascurrido este tiempo se sacaron, se enfriaron y se pesaron.

El porciento de grasa se determinó con la formula:

$$\%$$
grasa =  $\frac{pesoMatraz + Grasa - Pesomatraz}{gr.Muestra}x100$ 

#### Porciento de ceniza.

Se colocaron ocho crisoles en la mufla a 600°C por una hora, se sacaron en el desecador por 15 minutos hasta peso constante.

Se pesaron dos gr de muestra molida y se llevó a preincinerar, posteriormente se colocaron en la mufla a 600°C por dos horas, pasado este tiempo se sacaron se enfriaron en el desecador por 20 minutos y se pesaron.

El porciento de cenizas se calculó con la formula:

$$\%ceniza = \frac{PesoCrisol + Ceniza - PesoCrisol}{gr.Muestra}x100$$

#### Porciento de fibra cruda.

Para la determinación de esta variable se pesaron 2 gramos de muestra molida y desengrasada, se colocaron en un vaso de Bercellius, y se le agrego 100 mL de ácido sulfúrico al 25%, se colocó el vaso en el digestor Labconco se abrió el sistema de enfriamiento y se encendió la parrilla hasta calentar a una temperatura de 80-90 °C. Cuando la muestra empezó a hervir se tomo el tiempo hasta 30 minutos. Luego se filtró cada una de las muestras sobre una tela de lino, la cual se coloca sobre el embudo, se lavó con agua caliente hasta quitar reacción ácida.

Se vació la muestra en el vaso de Bercellius agregando 100 mL de hidróxido de sodio al 25%, después de que empezó a hervir se le dejó por 30 minutos, después de este tiempo se retiró, se filtró y se lavó con agua caliente, hasta quitar reacción alcalina, después se colocó la muestra en un crisol, se metió a la estufa por 12 horas, trascurrido el tiempo se sacó, se enfrió en el desecador,

se pesó y se preincineró. Después de preincinerada la muestra se metió a la mufla por un tiempo de 3 horas a 600°C, por ultimo se sacó, se preenfrió en un desecador por 15 minutos y se pesó.

El porciento de fibra cruda se calculó con al formula:

$$\% \ fibra-cruda = \frac{PesoCrisol + MuestraSeca - PesoCrisol + Ceniza}{gs.Muestra} x 100$$

#### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### Experimento realizado en trigo

#### Número de semillas germinadas.

Para la variable número de semillas germinadas (NSG) los resultados del ANVA y de las pruebas de medias indican ausencia de efecto significativo por los factores experimentales (Cuadro 5). Este resultado es diferente a los trabajos reportados en donde la aplicación de un láser de He-Ne aumenta la germinación en todas las especies vegetales probadas (Ouf y Abdel-Hady, 1999; Koper *et al.*, 1999; Gladyszewska *et al.*, 1998a y 1998b; Podlesny y Koper, 1998). Se cree que la percepción del estimulo del láser He-Ne ocurre vía fitocromo en una reacción dependiente del Ca<sup>2+</sup> (Skvarko y Demkiv, 1994). Es posible entonces que el estímulo originado por el láser AsAlGa sea percibido o traducido de forma diferente o bien que el tiempo transcurrido entre la irradiación y la siembra de alguna manera modificara o atenuara el estimulo.

Cuadro 5. Valores promedio de la variable número de semillas germinadas en trigo (*Triticum aestivum* L.), cuyas semillas fueron irradiadas y sometidas a estrés salino.

FACTOR	VARIABLE
Láser	NSG
T <sub>0</sub> T <sub>1</sub> T <sub>2</sub> T <sub>3</sub>	17.31 a <sup>*</sup> 17.38 a 17.56 a 18.00 a
NaCl	NSG
0 60 120 180	17.94 a 17.94 a 17.25 a 17.13 a

<sup>\*</sup>Medias seguidas de la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $\forall \#0.05$ ).  $T_0$ = Testigo;  $T_1$  = 0.3 J cm<sup>-2</sup>;  $T_2$  = 0.6 J cm<sup>-2</sup>;  $T_3$  = 1.2 J cm<sup>-2</sup>. 0, 60, 120, 180 = mM de NaCl. NSG = Número de semillas germinadas.

#### Biomasa.

Para la variable biomasa los resultados del ANVA indican efecto altamente significativo para el factor láser. Esto se observa en los valores arrojados por los las pruebas de rango múltiple, donde la biomasa de la raíz en peso fresco es modificada en comparación con el testigo siendo T<sub>2</sub> el mejor de los tratamientos láser, tamben se observa que T<sub>1</sub> no muestra diferencia significativa entre tratamientos, sin embargo numéricamente es mayor que T<sub>0</sub> y T<sub>3</sub> (Cuadro 6). Esto coincide con lo mencionado por Ouf y Abdel-Hady, 1999; Ivanova y Stoyanova, 2000, quien cita que la irradiación de semillas con láseres de baja intensidad dan lugar a un incremento en la biomasa de las plantas.

Para el factor sales y para la interacción no se encontró diferencia significativa ya que todos los tratamientos se comportaron estadísticamente iguales al testigo (Cuadro 6). Esto no coincide con lo mencionado por Larcher, 1995, quien cita que un retardo en el crecimiento en plantas es debido al contenido de sales, el cual afecta los procesos como la glicólisis, el ciclo de Krebs y la fotofosforilación.

Cuadro 6. Valores promedio de la variable biomasa en plántulas de trigo (*Triticum aestivum* L.) originadas de semillas irradiadas sometidas a estrés salino.

FACTOR	VARIABLE						
LAS	PFA	PFR	PFT	PSA	PSR	PST	PSR_A
T <sub>0</sub>	0.36 a <sup>*</sup>	0.0228 b	0.38 a	0.0464 a	0.0114 a	0.0578 a	0.27 a
T <sub>1</sub>	0.39 a	0.0396 ab	0.44 a	0.0478 a	0.0122 a	0.0602 a	0.27 a
T <sub>2</sub>	0.36 a	0.0510 a	0.42 a	0.0477 a	0.0129 a	0.0607 a	0.31 a
T <sub>3</sub>	0.33 a	0.0327 b	0.36 a	0.0406 a	0.0093 a	0.0499 a	0.26 a
NaCl	PFA	PFR	PFT	PSA	PSR	PST	PSR_A
0	0.36 a	0.0303 a	0.38 a	0.0478 a	0.0103 a	0.0583 a	0.23 b
60	0.36 a	0.0388 a	0.39 a	0.0451 a	0.0117 a	0.0568 a	0.28 ab
120	0.36 a	0.0389 a	0.41 a	0.0439 a	0.0114 a	0.0554 a	0.28 ab
180	0.36 a	0.0381 a	0.41 a	0.0458 a	0.0123 a	0.0582 a	0.31 a

Medias seguidos de la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $\forall$ #0.05).  $T_0$ = Testigo;  $T_1$  = 0.3 J cm<sup>-2</sup>;  $T_2$  = 0.6 J cm<sup>-2</sup>;  $T_3$  = 1.2 J cm<sup>-2</sup>. 0, 60, 120, 180 = mM de NaCl. PFA = peso fresco aéreo; PFR = peso fresco raíz; PFT = peso fresco total; PSA = peso seco aéreo; PSR = peso seco raíz; PST = peso seco total; PSR\_A= relación del peso seco raíz sobre peso seco aéreo; PSR = peso seco raíz sobre peso seco raíz sobre peso seco raíz sobre peso seco raíz sobre peso seco aéreo; PSR = peso seco raíz sobre peso s

#### Densidad estomática.

Para la variable densidad estomática el ANVA indican efecto altamente significativo para el factor sales y para la interacción. Esto se observa en la densidad estomática adaxial y abaxial, donde las plántulas originadas de semillas irradiadas que no fueron sometidas a un medio salino muestra mayor número de estomas (Cuadro 7), mientras que en la interacción se observa que las plántulas originadas de semillas irradiadas a 0.6 Jcm<sup>-2</sup> no sometidas a estrés salino son las que presentan mayor número de estomas (Cuadro 8). Un comportamiento análogo para la densidad estomática fue observado en plántulas de chile bajo estrés de frío cuyas semillas fueron tratadas con señalizadores de estrés (Benavides-Mendoza et al.,2002). Por eso se supone que de alguna manera el estimulo del láser se relaciona con la activación del sistema bioquímico de la planta que tiene que ver con la tolerancia al estrés, tal como fue demostrado por Kapelev (1989) al encontrar mayor actividad de lipasa (enzima involucrada en las cascadas de transducción de señales de estrés) en semillas de Nepeta cataria tratadas con un láser HeNe. Para el factor láser no se encontró diferencia estadísticamente significativa, sin embargo numéricamente se observa que las plántulas originadas de semillas irradiadas muestran mayor número de estomas siendo T<sub>2</sub> el mejor de los tratamientos, también se observa que el mayor número de estomas se presenta en el haz.

Cuadro 7. Valores promedio de la variable densidad estomática de plántulas de trigo (*Triticum aestivum* L.) originadas de semillas irradiadas sometidas a estrés salino.

FACTOR	VARIABLE			
LAS	DEH	DEE		
$T_0$	78.07 a <sup>*</sup>	62.79 a		
$T_1$	88.25 a	66.19 a		
$T_2$	96.74 a	73.83 a		
$T_3$	89.95 a	68.73 a		
NaCl	DEH	DEE		
0	107.77 a	81.46 a		
60	95.04 ab	68.73 b		
120	65.34 c	52.61 c		
180	84.86 bc	68.73 b		

Medias seguidos de la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $\forall \#0.05$ ).  $T_0$ = Testigo;  $T_1$ = 0.3 J cm $^{-2}$ ;  $T_2$ = 0.6 J cm $^{-2}$ ;  $T_3$ = 1.2 J cm $^{-2}$ . 0, 60, 120, 180 = mM de NaCI. DEH = densidad estomática en el haz; DEE = densidad etomática en el envés; IE = índice estomático.

Cuadro 8. Valores promedios de la interacción en la variable densidad de estomas en plántulas de trigo ( *Triticum aestivum* L) originadas de semillas irradiadas con laseres de baja intensidad y sometidas a estrés salino.

Tratamientos	0 JCM <sup>-2</sup>	0.03 JCM <sup>-2</sup>	0.6 JCM <sup>-2</sup>	1.2 JCM <sup>-2</sup>		
DEH						
0 NaCl	84.86 a	101.83 a	132.38 a	112.01 a		
60 NaCl	91.64 a	115.41 a	78.07 b	95.04 a		
120 NaCl	37.34 b	61.09 b	95.04 b	67.88 b		
180 NaCl	98.43 a	74.67 b	81.46 b	84.86 b		
		DEE				
0 NaCl	74.67 a	78.07 a	95.04 a	78.07 a		
60 NaCl	57.70 b	78.07 a	67.88 b	71.28 a		
120 NaCl	33.94 c	47.52 a	67.88 b	61.09 a		
180 NaCl	84.86 a	61.09 a	64.49 b	64.49 a		

<sup>\*</sup>Medias seguidos de la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $\forall \#0.05$ ).

Experimento realizado en plántulas de Lechuga

Número de semillas germinadas.

Para la variable número de semillas germinadas (NSG) los resultados del ANVA indican efecto significativo para los factores experimentales. Esto se observa en los valores arrojados por las pruebas de rango múltiple, donde se muestra que el número de semillas germinadas es mayor en las que no fueron irradiación (Cuadro 9). Este resultado es diferente a los trabajos reportados en donde la aplicación de un láser de He-Ne aumenta la germinación en todas las especies vegetales probadas (Ouf y Abdel-Hady, 1999; Koper et al., 1999; Gladyszewska et al., 1998a y 1998b; Podlesny y Koper, 1998). Es posible que por ser diferentes tipos láser, diferentes intensidades y diferentes especies el estímulo originado no tenga los mismos resultados por el láser AsAlGa ya que puede ser que sea percibido o traducido de forma diferente o bien que el tiempo transcurrido entre la irradiación y la siembra de alguna manera modificara o atenuara el estimulo.

Por otra parte en las semillas que no fueron sometidas a estrés hubo un incremento altamente significativo en la germinación, conforme se aumentó la concentración salina podemos ver que no hubo germinación como es el caso de 120 y 180 mM de ClNa (Cuadro 9). Esto se debe posiblemente a que la mayoría de las hortalizas son más sensibles a la salinidad que los básicos como el trigo, además estos resultados coinciden con lo dicho por Larches (1995), quien describe que cuando el contenido de sales rebasa cierto limites entonces la estructura del polipéptido se ve modificada disminuyendo o inhabilitando su función, provocando que los sistemas enzimáticos de la glicólisis, el ciclo de Krebs y la fotofosforilación sean sensibles a estos cambios además induciendo la concentración de dichas sales a una disponibilidad menor de energía, menor disponibilidad de nutrientes y minerales, lo que trae como consecuencia una menor germinación de la semilla.

Para la interacción se observa que las semillas no irradiadas y no sometidas a estrés muestras mayor germinación en comparación con los tratamientos láser sometidos a estrés (Cuadro 10).

Cuadro 9. Valores promedio de la variable número de semillas germinadas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), cuyas semillas fueron irradiadas con láseres de baja intensidad y sometidas a estrés salino.

FACTOR	VARIABLE
Láser	NSG
$T_0$	7.47 a <sup>⊥</sup>
$T_1$	6.06 b
$T_2$	5.84 b
$T_3$	5.61 b
NaCl	NSG
0	17.64 a
60	7.34 b
120	0.00 c
180	0.00 c

 $<sup>^{\</sup>perp}$ Medias seguidos de la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $\forall$ #0.05).  $T_0$ = Testigo;  $T_1$  = 0.3 J cm $^2$ ;  $T_2$  = 0.6 J cm $^2$ ;  $T_3$  = 1.2 J cm $^2$ . 0, 60, 120, 180 = mM de NaCl. \*\* = altamente significativo; NSG = Número de semillas germinadas.

Cuadro 10. Valores promedios de la interacción en la variable número semillas germinadas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) irradiadas con láseres de baja intensidad y sometidas a estrés salino.

TRATAMIENTOS	0 JCM <sup>-2</sup>	0.3 JCM <sup>-2</sup>	0.6JCM <sup>-2</sup>	1.2 JCM <sup>-2</sup>
0 NaCl	17.88 a	17.81 a	17.63 a	17.25 a
60 NaCl	12.00 b	6.44 b	5.75 b	5.19 b

<sup>&</sup>lt;sup>⊥</sup>Medias seguidos de la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey ∀#0.05).

#### Biomasa.

En la variable biomasa los valores arrojados por el ANVA muestran efecto altamente significativo para el factor láser y para la interacción. Para el factor láser los resultados de las pruebas de rango múltiple muestran un incremento en la biomasa de las plántulas para PFA, PFT, PSA, PSR y PST siendo T<sub>1</sub> el mejor de los tratamientos (Cuadro 11). Esto coincide con lo mencionado por Ouf y Abdel-

Hady, 1999; Ivanova y Stoyanova, 2000, quien cita que la irradiación de semillas con láseres de baja intensidad da lugar a incremento en la biomasa de las plantas. Para el factor sales no existe ninguna diferencia estadísticamente significativa, ya que la biomasa de las plántulas originadas de semillas irradiadas sometidas a estrés no muestra diferencia en comparación con el testigo (Cuadro 9). Esto coincide con lo mencionado por Larcher, 1995, quien cita que un retardo en el crecimiento en plantas, es debido al contenido de sales, el cual afecta los procesos como la glicólisis, el ciclo de Krebs y la fotofosforilación.

La interacción muestra un incremento en la biomas del PSR en las plántulas originadas de semillas irradiadas a 0.3 Jcm<sup>-2</sup> y sometidas a 60 mM de ClNa (Cuadro 12).

Cuadro 11. Valores promedio de la variable biomasa en plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) originadas de semillas irradiadas sometidas a estrés salino.

FACTOR	VARIABLE						
LAS	PFA	PFR	PFT	PSA	PSR	PST	PSR_A
$T_0$	8.61 b <sup>⊥</sup>	1.36 a	9.97 b	0.57 b	0.058 b	0.63 b	0.11 a
T <sub>1</sub>	20.65 a	3.08 a	23.73 a	1.27 a	0.152 a	1.43 a	0.12 a
T <sub>2</sub>	14.18 ab	2.23 a	16.41 ab	0.88 ab	0.092 ab	0.97 ab	0.11 a
$T_3$	7.31 b	2.46 a	9.77 b	0.41 b	0.047 b	0.45 b	0.12 a
Na Cl	PFA	PFR	PFT	PSA	PSR	PST	PSR_A
0	11.75 a	2.57 a	14.32 a	0.76 a	0.084 a	0.85 a	0.12 a
60	13.64 a	1.99 a	15.63 a	0.81 a	0.092 a	0.89 a	0.11 a

<sup>&</sup>lt;sup>⊥</sup>Medias seguidos de la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey ∀#0.05). T₀= Testigo; T₁ = 0.3 J cm<sup>-2</sup>; T₂ = 0.6 J cm<sup>-2</sup>; T₃ = 1.2 J cm<sup>-2</sup>. 0, 60 = mM de Na Cl. PFA = peso fresco aéreo; PFR = peso fresco raíz; PFT = peso fresco total; PSA = peso seco aéreo; PSR = peso seco raíz; PST = peso seco total; PSR\_A= relación del peso seco raíz sobre peso seco aéreo

Cuadro 12. Valores promedios de la interacción en la variable biomasa del peso seco de la raíz en plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) originadas de semillas irradiadas con laseres de baja intensidad.

TRATAMIENTOS	0 JCM <sup>-2</sup>	0.03 JCM <sup>-2</sup>	0.6JCM <sup>-2</sup>	1.2 JCM <sup>-2</sup>
0 NaCl	0.082 a	0.010 b	0.118 a	0.033 a
60 NaCl	0.035 a	0.202 a	0.066 a	0.062 a

¹Medias seguidos de la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey ∀#0.05).

# Densidad e índice estomático y células tabloides.

Los valores arrojados por el ANVA para estas variables muestran efecto significativo para los factores láser y sales. Los resultados de las pruebas de rango múltiple para el factor láser muestran un aumento el número de estomas en el envés (DEE) siendo T<sub>1</sub> el mejor de los tratamientos en comparación con el testigo, por otro lado T<sub>2</sub> aunque no muestra efecto significativo numéricamente también muestra aumento en la densidad de estomas en el envés, mientras que en DEH los tratamientos láser no mostraron ninguna diferencia significativa siendo estadísticamente iguales al testigo. Para las plántulas originadas de semillas irradiadas sometidas a estrés salino no hubo diferencia estadísticamente significativa (Cuadro13). Un comportamiento análogo para la densidad estomática fue observado en plántulas de chile bajo estrés de frío cuyas semillas fueron tratadas con señalizadores de estrés (Benavides-Mendoza et al.,2002). Por eso se supone que de alguna manera el estimulo del láser se relaciona con la activación del sistema bioquímico de la planta que tiene que ver con la tolerancia al estrés, tal como fue demostrado por Kapelev (1989) al encontrar mayor actividad de lipasa (enzima involucrada en las cascadas de transducción de señales de estrés) en semillas de Nepeta cataria tratadas con un láser HeNe.

Para la variable IE no existe diferencia significativa entre los tratamientos para los factores experimentales (Cuadro 13).

En la variable densidad de células tabloides los resultados obtenidos muestran una disminución en el número de estomas en las plántulas originadas de semillas irradiadas, siendo la densidad de células en el haz altamente significativa para T<sub>0</sub> mientras que para el factor sales no hubo diferencia significativa, pero numéricamente se puede observar que el número de células es mayor en las semillas que fueron sometidas a estrés salino (Cuadro 13).

Cuadro 13. Valores promedios de las variables densidad e índice estomático y células tabloides en plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) originadas de semillas irradiadas sometidas a estrés salino.

FACTO R	VARIABLE					
LAS	DEH	DEE	IEH	IEE	DCH	DCE
$T_0$	42.17 a <sup>⊥</sup>	45.55 ab	20.45 a	21.67 a	169.54 a	172.06 a
T <sub>1</sub>	43.01 a	56.51 a	20.87 a	26.65 a	163.63 ab	156.04 a
$T_2$	42.17 a	50.61 ab	24.06 a	27.09 a	132.42 bc	135.79 a
T <sub>3</sub>	36.26 a	37.95 b	21.62 a	22.65 a	129.05 c	134.11 a
Na Cl	DEH	DEE	IEH	IEE	DCH	DCE
0	44.28 a	48.07 a	23.62 a	25.12 a	143.81 a	146.34 a
60	37.54 a	47.23 a	19.88 b	23.83 a	153.51 a	152.66 a

¹-Medias seguidos de la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey ∀#0.05). T₀= Testigo; T₁= 0.3 J cm⁻²; T₂= 0.6 J cm⁻²; T₃= 1.2 J cm⁻². 0, 60= mM de Na Cl. DEH = densidad estomática en el haz; DEE = densidad etomática en el envés; INH = índice estomático en el haz; IEE= índice estomático en el envés; DCH= densidad de células en el haz; DCE= densidad de células en el envés.

# Porciento de proteína, grasas, cenizas, fibra cruda y nitrogeno (N).

Para las variables porciento de proteína, grasas, cenizas, fibra cruda y nitrógeno (N) el ANVA muestra que existe efecto significativo para el factor láser. Como se observa en los resultados obtenidos por las pruebas de rango múltiple el contenido de, PROT, GRS, N y FC es más bajo en las semillas irradiadas en comparación con las que no fueron irradiadas. Para el factor sales las plántulas de semillas irradiadas sometidas a estrés salino no mostraron ninguna diferencia significativa para las variables (Cuadro 14).

Cuadro 14. Valores promedios de las variables porciento de Proteínas, Grasas, Nitrógeno, Cenizas y Fibra Cruda en plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) originadas de semillas irradiadas sometidas a estrés salino.

FACTOR	VARIABLE					
LAS	%PROT	%GRA	%N	%CEN	%FC	
T <sub>0</sub> T <sub>1</sub> T <sub>2</sub> T <sub>3</sub>	21.73 a <sup>⊥</sup> 17.12 b 20.89 a 20.89 a	4.89 a 4.04 a 3.64 ab 3.41 b	3.47 a 2.74 b 3.34 a 3.34 a	15.71 a 15.82 a 11.25 b 11.82 b	17.90 a 14.79 a 14.61 a 15.73 a	
Na Cl	%PROT	%GRA	%N	%CEN	%FC	
0	19.88 a	4.16 a	3.18 a	13.48 a	15.98 a	
60	20.44 a	3.83 a	3.27 a	13.82 a	15.53 a	

<sup>⊥</sup>Medias seguidos de la misma letra no son estadísticamente iguales (Tukey  $\forall \#0.05$ ).  $T_0$ = Testigo;  $T_1$  = 0.3 J cm<sup>-2</sup>;  $T_2$  = 0.6 J cm<sup>-2</sup>;  $T_3$  = 1.2 J cm<sup>-2</sup>. 0, 60= mM de Na Cl. PROT= proteína; GRA= grasa; N= nitrógeno; CEN= ceniza; CF= fibra ceniza.

En la figura 1 se ilustra como las plántulas de lechuga originadas de semillas que no fueron irradiadas y que fueron sometidas a estrés salino presentan un mayor porcentaje de grasas, mientras que las plántulas originadas de semillas irradiadas y sometidas a estrés salino presentan una disminución en el contenido de grasas.

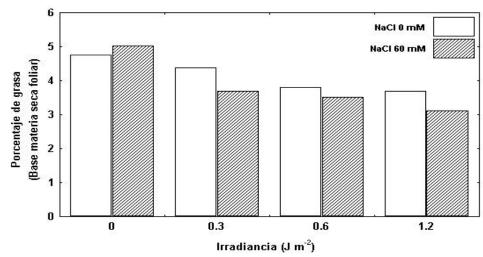


Figura 1. Respuesta del contenido de Grasas en plántulas de Lechuga originadas de semillas irradiadas sometidas a estrés salino.

En la figura 2 se muestra como las plántulas de lechuga originadas de semillas que no fueron irradiadas y que fueron sometidas a estrés salino presentan un menor contenido de nitrógeno, mientras que las plántulas originadas de semillas irradiadas y sometidas a estrés salino presentan un aumento en el contenido de nitrógeno.

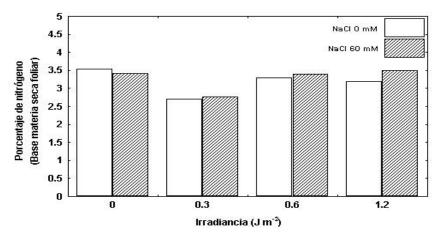


Figura 2. Respuesta del contenido de nitrógeno (N) en plántulas de Lechuga originadas de semillas irradiadas sometidas a estrés salino.

En la figura 3 se muestra como las plántulas de lechuga originadas de semillas que no fueron irradiadas y que fueron sometidas a estrés salino presentan un mayor contenido de cenizas, mientras que las plántulas originadas de semillas irradiadas y sometidas a estrés salino presentan una disminución en el contenido de cenizas.

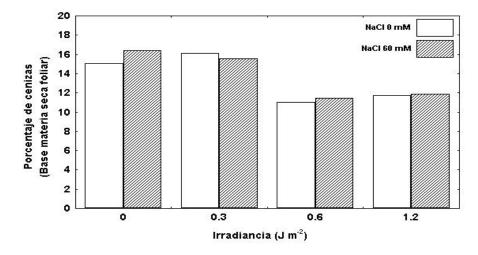


Figura 3. Respuesta del contenido de cenizas en plántulas de Lechuga originadas de semillas irradiadas sometidas a estrés salino.

### CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación podemos concluir que:

Para el experimento realizado en Trigo la germinación de las semillas irradiadas y sometidas a estrés salino no es modificada por la irradiación del láser AsAlGa, mientras que el crecimiento y morfología de las plántulas de trigo sometidas a estrés salino si fue modificada por la irradiación del láser AsAlGa, siendo T<sub>2</sub> (0.6 J cm<sup>-2</sup>) el mejor tratamiento láser.

La densidad estomática sin estrés salino aumentó significativamente en el mismo tratamiento de 0.6 J cm<sup>-2</sup>. En cambio bajo estrés salino la densidad estomática de las plántulas fue disminuida por la irradiación de las semillas.

En el experimento realizado en Lechuga la germinación de las semillas irradiads y sometida a estrés salino se vio modificada por la irradiación del láser AsAlGa inhibiendo la germinación.

El crecimiento y la morfología de las plántulas de semillas de lechuga irradiadas y sometidas a estrés es modificada por la irradiación de I láser AsAlGa aumentando la biomasa, siendo nuevamente T<sub>2</sub> (0.6 J cm<sup>-2</sup>) el mejor tratamiento.

La densidad estomática y células tabloides de las plantas de lechuga provenientes de semillas irradiadas y sometidas a estrés salino se ve disminuida por la irradiación del láser AsAlGa.

De igual forma el contenido de proteína, lípidos, nitrógeno (N) y cenizas de plántulas que venían semillas irradiadas y sometidas a estrés se ve modificado por la irradiación del láser AsAlGa, disminuyendo su contenido en comparación con las semillas que no fueron irradiadas.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- A.O.A.C. (1980) METODOS OFICIALES DE ANÁLISIS. Association of Oficial Agricultural Chemists. Washington, D.C.U.S.A.
- Benavides, M., A. 2002. Ecofisiología y Bioquímica del Estrés en Plantas. Primera Edición. Depto. De Horticultura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México.
- Blum, A. 1988. Plant Breeding for Stress Environments. CRC Press, inc. Boca Raton, Florida. 223 pag.
- Claridades. Noviembre del 2003. Servicio de información y estadística agroalimentaria y pesquera con información de las delegaciones de la SAGARPA en los estados. pagina 65.
- Cook, R.J., and R.J. Veseth. 1991. Wheat health management. St Paul Minnesota. APS Press.
- Escalante Z.J.G. 1991. Respuesta de trigo (*Triticum aestivum* L), Variedad Serim-82 al Riego en sus diferentes etapas Fenologicas. Tesis de Licenciatura, Buenavista, Saltillo Coahuila, México. pp 56.
- Epstein, E. 1983. Crop tolerant of salinity and other mineral stresses. In: Ciba Found Symp. 97: Better crops for food. Pitman, London, pp. 61-76.
- Esau, K. 1972. Anatomía Vegetal. Segunda Edición, Ediciones Omega S.A. Barcelona, España. pp. 179-181.
- Flowers, T.J. 1985. Physiology of halophytes. Plant Soil 89:41-56.
- Gates D.M. 1980. Biofhysical ecology. Springer-Verlag New York, Inc. New York.
- Giavelli, S., G. Fava, G. Castronuovo, L. Spinoglio, A. Galanti. 1998. LLLT in osteoarticular diseases in geriatric patients. Radiol. Med. 95:303-309.
- Gladyszewska, B., R. Kopper, K. Kornarzynski. 1998a. Application and results of pre-sowing laser biostimulation of tomato seeds. Inzynieria Rolnicza 2:37-44.
- Gladyszewska, B., B. Kornas-Cruczwar, R. Koper, S. Lipski. 1998b. Teoretical and practical aspects of pre-sowing laser biostimulation of te seeds. Inzynieria Rolnicza 2:21-29.

- Gossett D.R., E.P. Millhollon and M.C. Lucas. 1994. Antioxidant response to Na Cl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton. Crop Sci. 34:706-714.
- Grattan, C. R. and S.M. Grieve. 1999. Salinity-Mineral nutrient relations in horticultural crops. Sci. Hort. 78: 127-157.
- Harazaki, M. and Y. Isshiki. 1997. Soft laser irradiation effects on pain reduction in orthodontic treatment. Bull. Tokio Dent. Coll. 38:291-295.
- Howard, 1969. Stomatal Density and Respensiveness of Banana Fruit Stomates Plant Physiology 41:99-101.
- Ivanova, R. and S. Stoyanova. 2000. Efect of presowing irradiation of seed from winter rapeseed by helium-neon laser on the growth, yield and quality of the green mass. Biotehnologija-ustocarstvu 16:75-83.
- Kapelev, O.I 1989. The effects of pre-sowing OKG-II laser irradiation on the swelling and main enzymatic proceses of catmint seeds. Sbornik-Nauchnykh Trudov-Gosudarstvennyi-Nikitskii-Botanicheskii-Sad. 108:137-144.
- Koper, R., B. Kornas-Czuczuwar, T. Procniak, J. Podlesny. 1999. Effect of presowing laser biostimulation of white lupine sedes on mecanical properties of crop yield. Inzynieria Rolnicza 2:21-28.
- Kuruvadi, S. 1989. Frecuencia y Tamaño de los Estomas en Ambientes de Riego y Temporal en Fríjol común *Phaselus vulgaris* L. Revista Agraria Científica UAAAN (1) 14-28.
- Larcher, W. 1995. Physiological Plant Ecology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 506 p.
- Leran, G. A. 1975. Lechuga. Enciclopedia de la Huerta. Ed Mundo Técnico. Tercera Edición. Buenos Aires.
- Lersten, N.R. 1987. Morphology and anatomy of the wheat plant. In: Heyne, E. G. (ed.) "Wheat and wheat improvement". Madison, WI, USA, American Society of Agronomy. P.33-75. (Agronomy No. 13.).
- Maiti, R. K. Y A. Benavides M. 2002. Salinidad. En: A. Benavides M. (Copilador). Ecofisiología y Bioquímica del Estrés en Plantas. UAAAN. Saltillo, México. pp. 54-56.
- Martínez, E.H.M. 1997. El cultivo de la lechuga. Monografía. U.A.A.A.N. Saltillo, Coahuila, México.

- Nederhoff, E. M. 1994. Effects of CO<sub>2</sub> Concentration on Photosynthesis, Transpiration and Production of Greehouse fruit Vegetable, Crops the Glasshouse Crops Research Station, Netherlands. pp 93-101.
- Ouf, S.A., N.F. Abdel-Hady. 1999. Influence of He-Ne laser irradiation of soybean seeds on seed mycoflora, growth, nodulation, and resistance to *Fusarium solani*. Folia-Microbiol. 44:388-396.
- Piña. J.M. 1994. el cultivo del chícharo (*Pisum sativum L.*): Su respuesta bajo condiciones de acolchado y azufre elemental. Tesis de Licenciatura en Biología. División de Ciencias Biológicas, ICCCAC. Saltillo, Coah.
- Podlesny, J. and R. Koper. 1998. Effectiveness of presowing tratment of white lupine seeds with laser radiation. Zesyty-Problemowe-Postepow-Nauk-Rolniczych. 454:255-262.
- Qi, Z., M. Yue, X.L. Wang. 2000. Laser pretreatment protect cells of broad bean from UV-B radiation damage. J. Photochem. Photobiol. B 59:33-37.
- Ray, P.M. 1985. La Planta viviente. Compañía Editorial Continental, S.A. México. Pp.227.
- Robledo T., V. 2002. Bases Genicas de la Resistencia al Estrés Oxidativo. En: A. Benavides M. (Copilador). Ecofisiología y Bioquímica del Estrés en Plantas. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. pp. 145-150.
- Roth, I. 1976. Anatomía de las Plantas Superiores. Segunda Edición Universidad de Venezuela. Ediciones de la Biblioteca. Caracas Venezuela.
- SAGAR, ACERCA. 2000. Situación y Perspectiva de los Mercados internacionales de Maíz, Trigo, Algodón y Soya, ISNNOI88-9978, pagina 26.
- Skvarko, K.O. and O.T. Demkiv. 1994. Changes in the Ca<sup>2+</sup> content and intracellular pH in cress (*Lepidium sativum*) under the influence of laser radiation. Fiziologiya-i-Biokhimiya-Kul´turnykh-Rastenii 26:26-32
- Thompson y Kelly, 1959. Vegetable Crops. Quinta edición Mc Graw-Hill Book company. New York.
- Valdez, L.A. 1998. Producción de Hortalizas ed. Limusa, Séptima Reimpresión, impreso en México. pp. 150-151.

Vega, C.J. 1997. Evaluación del Acolchado Plástico y Microtunel con riego por goteo en el cultivo de la Lechuga (*Lactuca sativa* L.). Tesis Profesional de Licenciatura. U.A.A.A.N. Saltillo, Coahuila, México.

Willmer, 1983. Stomat. Editorial Mc-Grill. USA.