

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMIA



**Cambios en la absorción de minerales y anatomía epidérmica de
manzano al aplicar ácidos orgánicos.**

Por:

FRANCISCO JAVIER RODRÍGUEZ ARANDA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

Ingeniero Agrónomo en Horticultura

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
Marzo del 2003.**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

DIVISIÓN DE AGRONOMIA

**Cambios en la absorción de minerales y anatomía epidérmica de
manzano al aplicar ácidos orgánicos**

TESIS

Presentada por:

FRANCISCO JAVIER RODRÍGUEZ ARANDA

**Que Somete a Consideración del H. Jurado Examinador
Como Requisito Parcial para Obtener el Título de:
Ingeniero Agrónomo en Horticultura**

M.C. Juan José Galván Luna
Presidente del Jurado

Dr. Adalberto Benavides Mendoza
Sinodal

Dr. Homero Ramírez Rodríguez
Sinodal

M.C. Antonio Francisco Aguilera Carbo
Sinodal

M.C. Leopoldo Arce González
Coordinador de la División de Agronomía.

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
Marzo del 2003.**

AGRADECIMIENTOS

A mi “**ALMA TERRA MATER**” gracias a la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” por haberme albergado en sus aulas y enriquecerme de sus conocimientos requeridos para formarme profesionalmente, Universidad de la cual siempre me sentiré orgulloso.

A mis padres y amigos:

Sr. Javier Rodríguez Hernández
Sra. Ma del Refugio Aranda García

Por su apoyo incondicional en todo momento de mi vida y sus consejos, quienes creyeron en mí y me apoyaron para concluir mi estudio y me inculcaron el respeto a las personas, la responsabilidad de los compromisos, el amor hacia las cosas, al trabajo y el carácter para resolver los problemas que la vida a diario presenta. Siempre estaré agradecido con ellos.

Muy sincero al Dr. Adalberto Benavides Mendoza por sus consejos tan amigables y certeros para realizar este trabajo y el tiempo que dispuso para atenderme en todo momento de mis dudas sobre este trabajo.

Al M.C. J. José Galván Luna por sus asesorías, consejos y apoyo incondicional en el campo y aulas que día con día me sirvieron para mi formación como persona y como profesionista, el cual me ayudo para la culminación de este trabajo.

Al Dr. Homero Ramírez Rodríguez, por sus asesorías, orientaciones, consejos en la realización del presente trabajo.

Al M.C. Antonio Francisco Aguilera Carbo, por su apoyo desinteresado para llevar acabo este trabajo.

A todos los maestros de la Universidad que de alguna manera intervinieron en mi formación profesional, en especial al Ing. Inocente Mata Beltrán por sus enseñanzas amigables y por la amista que hay entre nosotros y demás maestros del Departamento de Horticultura.

DEDICATORIA

Pensando en este bello final, en la realidad que me sucede día tras día a través de la vida entera quiero expresar mi mas sincero agradecimiento a ese ser maravilloso y omnipotente que ha dado tanta hermosura al mundo y que siempre estuvo a mi lado cuando lo necesite. **A TI MI DIOS**

A mis padres y amigos quienes me dieron el ser:

Sr. Javier Rodríguez Hernández
Sra. Ma del Refugio Aranda García

Por esos esfuerzos, paciencia, sacrificio y sabios consejos que supieron encaminarme hacia mi más grande anhelo, mi formación como persona responsable y como profesionista.

Por siempre estaré agradecido con ellos.

A mis hermanos:

Mercedes, Estela, Gabriela, Ma de los Ángeles, Rosina, Arnoldo, Roberto. Por todos los momentos bellos que hemos convivido juntos. A mis cuñados Ing. Gerardo Morales, Roberto López.

En especial a mi hermana **Estela** por brindarme todo su apoyo incondicional para salir adelante en mi carrera.

A una gran persona que ha sabido entender y comprender cada uno de mis errores, valorando mis derrotas y triunfos, por su cariño, sonrisa, comprensión y ternura que me ha brindado siempre incondicionalmente y por todos esos momentos hermosos que hemos pasado juntos.

A mi novia: *Gloria D. Mundo Ramírez*

A mis amigos: Cesar García P., Odilon Méndez, José Luis Manzano, Sergio Mundo, Luis Alberto Solano, Ing. Vicente Álvarez, José Manuel Alcalá, M.C. Gerardo Sánchez, Jesús Estrada, Gerardo Santillán, Naiber Suárez, Ing. Gregorio Anguiano, Pablo Urdiano, German Galindo, Moisés Gonzáles, Emmanuel Rodríguez, Luis E. Figueroa y en especial Ing. Ignacio Espinosa Arias (†) y paisanos del estado de Jalisco por todo su apoyo que me brindaron en los momentos difíciles de estudiante. A todas mis amigas y amigos que por no mencionar dejen de ser importantes.

A los entrenadores Ismael Torres, Joel Vázquez y compañeros de Boxeo de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

A mis compañeros de la Generación XCIV de Horticultura por el tiempo que convivimos juntos.

INDICE DE CONTENIDO.

	Pág.
AGRADECIMIENTOS	I
DEDICATORIA	II
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	III
INDICE DE CUADROS.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VI
RESUMEN.....	VII
INTRODUCCIÓN	1
Objetivos	3
Hipótesis	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Generalidades de los ácidos orgánicos.....	4
Uso del ácido cítrico	5
Características del ácido cítrico	5
Características del ácido Benzoico	7
Otros trabajos aplicando ácidos orgánicos.....	8
Quelatacion	10
Propiedades químicas.....	11
Los ácidos orgánicos	15
Uso como buffer.....	15
Complejante de metales	15

Papel nutricional	16
Generalidades sobre los estomas.....	18
Anatomía estoma.....	18
El cultivo del manzano.....	22
Clasificación taxonómica.....	22
Descripción botánica.....	23
Tallo	23
Hojas	23
Flor	23
Fruto	23
Semilla	24
 MATERIALES Y MÉTODOS	 25
Localización geográfica	25
Material utilizado	25
Material vegetal.....	25
Materiales utilizados	26
Establecimiento del experimento	26
Diseño experimental y tratamientos.....	29
Variables evaluadas.....	29
 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	 32
 CONCLUSIONES.....	 41
 LITERATURA CITADA	 42

ÍNDICE DE CUADROS.

Cuadro 2.1	Constantes de estabilidad para los quelatos de ácido cítrico más comunes.....	12
Cuadro 2.2	Comparación del efecto quelante en Cu del ácido cítrico con otros quelatos	13
Cuadro 2.3	Comparación del efecto quelante en Ca del ácido cítrico con otros quelatos	13
Cuadro 2.4	Comparación de la fortaleza de los quelatos	14
Cuadro 4.1	Concentración de nutrientes en hojas de manzano sin el evento de estrés hídricos.....	32
Cuadro 4.2	Medición de crecimiento en la morfología de manzano sin estrés	33
Cuadro 4.3.	Promedio de índice estomático evaluado en el envés de la hoja antes de estrés.....	33
Cuadro 4.4.	Determinación de Nutrientes minerales antes de evento estrés hídrico	35
Cuadro 4.5	Mediciones de crecimiento en la morfología, con estrés hídrico.....	36
Cuadro 4.6	Promedio de índice estomático evaluado en el envés de la hoja antes de estrés.....	37
Cuadro 4.7	Promedio de frutos de manzana	38
Cuadro 4.8	Valores promedio de almidón, azúcares totales y reductores	39

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Densidad estomática abaxial en hojas de manzano con aplicación de ácidos orgánicos	35
Figura 2. Densidad estomática abaxial en hojas de manzano con aplicación de ácidos orgánicos y los eventos de estrés hídrico	38

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se realizó en el mes de abril del 2001 a Octubre del 2002 en el Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, con domicilio en la Ex-Hacienda Buenavista Saltillo Coahuila Méx. Cuyas coordenadas geográficas responden a los 25° 22” latitud Norte 101° 00” Longitud Oeste con una altitud de 1743 msnm.

El ácido benzoico es un ácido orgánico, sólido cristalino, el ácido carboxílico aromático mas simple. Se utiliza en gran parte para hacer sus sales y esterres lo mas notablemente posible el benzoato de sodio, que se utiliza extensamente como preservativo en alimentos y bebidas como antiséptico suave en enjuagues y cremas dentales.

El ácido cítrico es un compuesto orgánico que cumple funciones clave en las estrategias que utilizan las plantas para coleccionar nutrientes del suelo y aclimatarse a la presencia de metales pesados, entre otras.

En este trabajo, se busca conocer la respuesta del árbol de manzano a la aplicación de ácidos orgánicos con una concentración de ácido benzoico (AB) 10^{-4} M, AB 10^{-5} M y ácido cítrico (AC), 10^{-3} M, AC 10^{-4} M, para observar en que forma modifica la morfología de la planta, minerales y anatomía epidérmica.

Las aplicaciones de ácidos orgánicos se hizo cada 2 semanas (15 días) aplicando por cada tratamiento 12 litros de agua. Pasados siete meses del mismo año (2001) se realizó el primer conteo de estomas, determinación de minerales, morfología del manzano estas aplicaciones de ácidos orgánicos tuvieron una duración aproximada de 18 meses (abril del 2001 a octubre del 2002). Después de esto se procedió aplicar tres eventos de estrés hídrico en las plantas de manzano en donde después de terminar los eventos de estrés se procedió hacer la segunda determinación de conteo de estomas, determinación

de minerales, morfología del manzano y por primera vez porcentaje de almidón en las hojas así como azúcares totales y reductores en hojas.

Los resultados obtenidos de las diferentes variables evaluadas durante el desarrollo del experimento son los siguientes. El mejor tratamiento fue el ácido cítrico (AC), 10^{-3} M, AC 10^{-4} M, el cual se observaron diferencias significativas en incremento de la densidad estomatica en la parte abaxial. Se observó un incremento en la concentración de cationes y una disminución en los aniones en el tejido foliar con la aplicación de estrés hídrico y sin la aplicación del mismo. Los azúcares totales y reductores se vieron incrementados al aplicar ácidos orgánicos AC, AB.

INTRODUCCION

El manzano (*Malus Domestica*), es un frutal caducifolio de clima templado, y uno de los más antiguos del mundo y de mayor importancia dentro de los frutales de pomo. Es originario de las regiones caucásicas (Asia Menor), y es un frutal de gran demanda para consumo en fresco, (Ramírez y Cepeda, 1993)

En la actualidad se le localiza virtualmente en todas las regiones templadas del globo terrestre, sin embargo, el avance de la tecnología ha permitido en años recientes que este importante frutal sea cultivado en regiones subtropicales y al nivel del mar como es en el caso de la costa de Hermosillo en México y otros países como Venezuela, Israel, Filipinas y Tailandia. Destacándose por su valor nutricional y al volumen de mano de obra que este genera, al igual que los ingresos que de el se obtienen debido a que parte de la producción del manzano se destina a exportación y a la industrialización por su gran contenido alimencio, se dice que cada 100 grs. de la parte comestible del fruto del manzano esta nutricionalmente compuesto de: 84% de agua; 56 calorías; 0.2 grs. de proteínas; 0.6 g de grasas; 14.1 g de carbohidratos; vitamina A 90 unidades internacionales i.u; vitamina B; 0.03 mg; niacina, 0.1 mg; vitamina C (ácido ascórbico), 7 mg; fósforo, 10 mg; fierro, 0.3 mg; sodio, 1 mg; y potasio 110 mg (Weswood, 1978)

En años recientes la producción de manzana en México a aumentado notablemente, debido a la gran demanda que tiene esta fruta como consumo fresco para el país por lo que ocupa una superficie de 43,060 ha con un rendimiento de 8.5 ton/ha y una producción de 357,345 ton/año (DATOS DEL C.E.A) Ocupando un 83 % los Edos. Chihuahua, Durango, Coahuila, Puebla, Sonora.

Dentro de los principales países productores del mundo, se encuentran: Alemania, Argentina, Canadá, Chile, China, España, Estados Unidos, Francia, Italia, Polonia y Turquía, entre otros, de los cuales México ocupa el treceavo lugar (Ramírez y Cepeda, 1993). A nivel nacional hay 23 estados productores

de manzana siendo los principales: Chihuahua, Durango, Coahuila y Puebla, lo que ayuda a generar siete millones de jornales por ciclo (Perales, 1992)

Coahuila ocupa el tercer lugar a nivel nacional en cuanto a superficie sembrada y octavo en rendimiento, en la Sierra de Arteaga, con una media general de 9 ton/ha, siendo las principales variedades establecidas; Golden Delicious, Red Delicious, Doble Red Delicious, Rome Beauty, Jonathan, Starking y Rosa Española (González citado por Mendoza, 1995) . En los últimos años la falta de agua a nivel nacional a provocado serios problemas en el agro mexicano es por ello que se buscan nuevas alternativas para disminuir los efectos de estrés hídrico, así mismo los altos costos de fertilizantes los cuales son importantes para una buena producción, en la actualidad la tendencia de algunos productores es la de aplicar mas fertilizante del necesario y mucho de este no es aprovechado por la planta, ocasionando que se eleven los costos de producción además de que se contaminan los suelos y mantos freáticos.

Algunos problemas, tales como, el abatimiento de los mantos acuíferos y con ello la exposición de las plantas a problemas de estrés, así como la disminución de las reservas nutrimentales de los suelos obligan a los productores a usar alternativas para poder superar tales problemas. Dentro de las alternativas utilizadas para superar estos problemas se encuentra el uso de quelatos tales como: Ácido Etilen-Diamino-Tetra-Acético (EDTA), Ácido Tri-Poli-Fosfórico (TPPA), Dietilen-Triamino-Penta Acético (DTPA), Ácido Nitrito-Tri-Acético (NTA) etc. Los cuales son de un costo muy elevado, incrementando más los costos de producción, por lo que cada día es necesario buscar nuevas estrategias para reducir el efecto del estrés hídrico esto es un problema serio debido a la escasez de agua en las zonas agrícolas nacionales.

La búsqueda de productos que tengan características similares y que además sean de un costo de adquisición menor a los del mercado, por lo tanto se propone usar el Ácido Cítrico (AC), que tiene reportado poder quelatante con algunos elementos, así mismo, el ácido Benzoico (AB), que tiene participación en reducir el efecto de estrés, interrumpiendo el balance de la hormona y la formación de síntesis de la proteína en los sitios múltiples dentro de la planta,

así causando una variedad de anomalías del crecimiento vegetal, también tienen una función como reguladores de crecimiento y herbicidad controlando malas hierbas.

Debido a la problemática antes mencionada es necesario realizar estudios para medir o evaluar el efecto de estos ácidos orgánicos sobre el estrés hídrico, pero además de esto, es importante evaluar el efecto sobre el comportamiento agronómico del cultivo de manzano. Dado esto se plantean los siguientes objetivos.

OBJETIVOS

- Verificar el efecto de dos ácidos orgánicos, cítrico y benzoico aplicados en la solución nutritiva sobre el crecimiento, morfología y anatomía epidérmica foliar en árboles de manzano.
- Verificar si los resultados obtenidos en especies hortícolas al aplicar ácidos orgánicos son repetibles en árboles de manzano.

HIPÓTESIS

- El ácido cítrico en concentraciones, AC 10^{-4} M, AC 10^{-3} M y el benzoico AB 10^{-4} M, AB 10^{-5} , modifican la concentración de algunos elementos minerales necesarios para el crecimiento y desarrollo del manzano.
- Los ácidos orgánicos modifican los caracteres de densidad e índice estomático en árbol de manzano, modificando la respuesta de tolerancia al estrés.

REVISION DE LITERATURA

Generalidades de los ácidos orgánicos

Los diversos compuestos orgánicos necesarios para la elaboración de las membranas, paredes celulares y demás componentes estructurales de la planta, así como los requeridos para la regulación del metabolismo vegetal, surgen como resultado de una intensa y variada actividad de síntesis que consume ATP generan en la respiración, y que emplea como precursores los esqueletos carbonados que proporciona la fotosíntesis (triosas, hexosas) o bien compuestos intermedios del ciclo de krebs. A partir del pirúvico u otros ácidos orgánicos del ciclo del ácido cítrico pueden sintetizarse diversos aminoácidos, de los que derivan las proteínas y otros compuestos nitrogenados como el ácido indolacético, alcaloides, clorofila, etc. (Galston *et al.*, 1980)

Entre los ácidos orgánicos más conocidos se encuentran el ácido cítrico, pirúvico, láctico, butírico, acético, benzoico, málico y ascórbico. Todos ellos se caracterizan por ser aniones orgánicos con capacidad de quelar cationes metálicos. De manera natural las plantas utilizan estos compuestos para excretarlos a la rizosfera de tal forma que se modifica la disponibilidad de metales como el Fe, Al y otros. Así mismo el efecto acidificante es utilizado para manipular la disponibilidad de algunos elementos como el fósforo (Massonneau *et al.*; 2001 Sas *et al.*, 2001)

Además de su enorme importancia en el metabolismo primario, en el ciclo de Krebs, la glicólisis, metabolismo de carbohidratos y lípidos, etc. Los ácidos orgánicos cumplen funciones clave en las estrategias que se utilizan las plantas para tolerar el estrés (Ma *et al.*, 2001), coleccionar nutrientes del suelo, aclimatarse a la presencia de pesados metales así como para controlar la flora microbiana del filopiano y rizosfera (López-Bucio *et al.*, 2000)

Usos del ácido cítrico

El ácido cítrico es un producto normal del metabolismo de prácticamente todos los organismos aeróbicos, ocupando un lugar clave en uno de los mecanismos de producción de energía, al que da su nombre, el ácido cítrico.

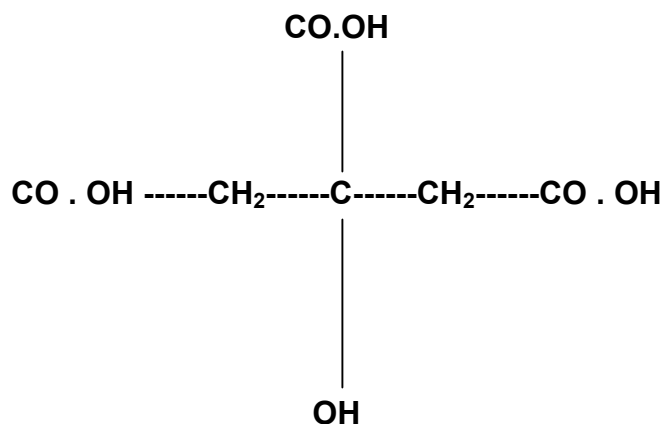
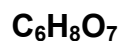
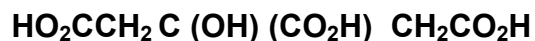
Se utiliza en la fabricación de limonadas y sales efervescentes (mezclado con bicarbonato de sodio, ambos polvo seco), otros derivados se utilizan como purgantes, es un componente esencial de la mayoría de las bebidas refrescantes, excepto las de cola, que contienen ácido fosforico) a las que confiere su acidez, con el mismo fin se utiliza en los caramelos, pastelería, helados, también se utiliza en la elaboración de curtidors, pan, conservas de pescados y crustáceos frescos y congelados entre otros alimentos (Devore,1969).

Características del ácido cítrico

Blas, (1963) citado por Ramos 2002 menciona que este ácido no contiene carbonos asimétricos y cristaliza con una molécula de agua, en la que es fácilmente soluble, a 130 °C pierde el agua de cristalización y funde a 153 °C y se descompone a temperaturas mas altas. Sus sales alcalinas son solubles, las demás muy poco. Tienen un peso molecular de 192.12 M y una densidad de 1542, kg/m³ se encuentra en estado físico en forma sólida y su formula es la siguiente:

Figura :

El ácido cítrico o 2-hidroxi-1,2,3-ácido propanetricarboxílico, un ácido orgánico carboxílico que contiene tres grupos de carboxilos.



Blas, (1963)

Es deseable y posible modificar artificialmente la concentración de ácidos orgánicos presentes en la solución del suelo o en la solución nutritiva del suelo. Las estrategias para lograr dicha modificación son el aumento de la tasa fotosintética y de la tasa de transporte de carbohidratos hacia las raíces, la modificación de los balances entre algunos nutrientes minerales seleccionados, o bien la aplicación exógena de ácidos orgánicos. En diferentes trabajos se ha encontrado que al cambiar las características químicas de la solución nutritiva, se observa un impacto significativo sobre la productividad, calidad nutritiva y calidad de procesamiento de algunas hortalizas (Albu- Yaron *et al.*, 2000). Adicionalmente, el cambio en la concentración y disponibilidad de diferentes nutrientes tanto en la solución como en los tejidos modifica la susceptibilidad de las plantas a enfermedades y plagas (Duffy *et al.*, 1999)

Características del Ácido Benzoico

El ácido benzoico ($C_6H_5CO_2H$) es un ácido orgánico, sólido cristalino que se funde a $122^\circ C$, hierve a $249^\circ C$ el ácido carboxílico aromático mas simple. A demás de la sintonización de una variedad de compuestos orgánicos (por ejemplo, alcoholbenzil bencilaldeol, benzaldeido, tolueno y ácido fólico.). Puede ser obtenido de las resinas, notablemente de la goma de benjuí. Se utiliza en gran parte para hacer sus sales y esteres lo mas importante el benzoato de sodio, que se utiliza extensamente como preservativo en alimentos y bebidas como antiséptico suave en enjuagues y cremas dentales. Los ácidos carboxílicos aromáticos más importantes son el ácido benzoico y los ácidos ftálico, los cuales se preparan en escala industrial por una reacción conocida, como la oxidación de alquilbencenos. El tolueno y el xileno necesarios se obtienen del petróleo por reformación catalítica de hidrocarburos alifáticos. Cantidades mucho menores de estos árenos se aíslan directamente del alquitrán de hulla. Otro precursor de ácido ftálico es el naftaleno que también se encuentra en el alquitrán de hulla. (Calderón Sáenz F.,1997)

El ácido benzoico tiene una amplia utilidad como intermediario de síntesis en muchos procesos orgánicos y algunos de sus esteres se emplean como plastificantes y en la industria de la perfumería (benzoato de bencilo). El benzoato de sodio y ácido benzoico se emplea en la industria de la alimentación como conservante y son los mas idóneos para los productos alimenticios, los jugos de frutas y las bebidas no alcohólicas, que por natulareza tiene un pH ácido. La producción mundial estimada de ácido benzoico es alrededor de 600 000 toneladas al a o. El ácido benzoico esta presente de manera natural en muchas plantas y en los animales. (Calderón Sáenz F.,1997)

El ácido benzoico es solo ligeramente soluble en agua, con frecuencia se utiliza en su lugar el benzoato de sodio, que en condiciones ácidas se convierte en

ácido benzoico no disociado. Es una sustancia sólida blanca ligeramente soluble en agua. El benzoato de sodio es alrededor de 200 veces mas soluble en el agua . el ácido benzoico se utiliza como producto intermedio en la síntesis de distintos compuestos, fundamentalmente el fenol (>50 %) de la cantidad producida en todo el mundo y la caprolactama. (Calderón Sáenz F.,1997)

Los ácidos benzoicos se consideran reguladores de crecimiento o herbicidas que interrumpen a las hormonas. La acción primaria parece implicar plasticidad de la pared de la célula y metabolismo del ácido nucleico. Los aumentos en estos procesos conducen a la división y al crecimiento incontrolado de las células. Los herbicidas benzoicos fueron probados por primera vez en los años 40 estos contienen auxinas (las características de la hormona de crecimiento) que dan lugar al crecimiento celular excesivo. El movimiento de los benzoicos de las a los meristemos terminales y de la raíz pueden moverse también en la transpiración (Calderón Sáenz F.,1997)

Otros trabajos aplicando ácidos orgánicos

Al-Bahrany y Al-Shabaan, (1995), reportan en un trabajo el efecto de los ácidos cítricos y oxálico (aplicados al suelo calcáreo) en la absorción por la planta del fosfato y de otros elementos, aplicados a las plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*), donde el efecto de las diferentes concentraciones (5, 10, 15 mM) de los ácidos cítrico y oxálico, (0,1); estos disminuyeron la absorción del P por la planta y por lo tanto se vio afectado el crecimiento de la planta en cuanto a su altura. Siendo el ácido cítrico el que causo mayor disminución. La declinación en la absorción de P fue atribuida al efecto acumulativo de la sal, sin embargo, el efecto en los micro elementos fue variable; aumento la absorción del Fe y Zn con la aplicación de ambos ácidos, también hubo efecto en la absorción del Cu pero en menor importancia y en cuanto al Mn hubo una disminución de su absorción con altas cantidades del

ácido cítrico. Cabe mencionar que ambos ácidos aumentaron generalmente la absorción del Ca, Mg, K.

Senden *et al.*, (1995), aplicaron ácido cítrico a las raíces de plántulas de tomate del cv. Tim para ver su efecto sobre la absorción y distribución del cadmio (Cd). Donde este fue medido por espectrofotometría-gama usando Cd y el ácido cítrico fue medido con un detector ---- UV usaron, cítrico, este fue aplicado por el beta-espectrofotómetro. El Cd fue aplicado en periodos de 48 horas y el ácido cítrico por 24 horas el cual contribuyo para la preincubación de la planta, la cual dio lugar a la aplicación de 2 veces la cantidad de ácido cítrico en la raíz. La aplicación de Cd y ácido cítrico no cambiaron la acumulación del Cd en la raíz ni en toda la planta, como resultado de la pre-incubación aumento su absorción al doble, en la raíz su transporte aumento de 5 a 6 veces y la concentración en tejidos y en el xilema aumenta de 6 a 8 veces formando al parecer complejos con el ácido cítrico.

Borkowski *et al.*, (1994), reportaron en un trabajo el efecto de la temperatura en la quemadura de las extremidades de la col de china su control por el nitrato de calcio o ácido cítrico, en su primer ensayo la siembra se hizo en invernadero a mediados de enero, la mitad de las plantas se rociaron en 6 a 8 días con una solución de nitrato de calcio al 3%. La mitad de las plántulas fue puesta a una temperatura de 10 °C menor que la del invernadero (19 a 9°C) 2 semanas antes de la cosecha. En un segundo ensayo la siembra se hizo a mediados de julio al aire libre, para cosechar en octubre, también las plantas fueron tratadas con nitrato de calcio. En un tercer ensayo, se hicieron 5 aplicaciones con atomizador de ácido cítrico al 0.25 y 0.5 % a las plantas en 3 intervalos de 6 días. Los resultados obtenidos mostraron que el nitrato de calcio y el tratamiento con ácido cítrico no redujeron generalmente la incidencia de la quemadura de las extremidades, si no que redujo cuando las plantas fueron puestas a baja temperatura.

Lattanzio *et al.*, (1989), en un estudio sobre el efecto de los ácidos cítricos y ascórbico en la reacción del bronceo por fenoles en la alcachofa cv Catanese (*Cynara scolimus* L), Independientemente de la etapa de crecimiento de la planta a baja temperatura en bolsas de polietileno cerradas, mostraron un aumento inicial de fenoles, especialmente ácido cafeíco. Después de las primeras 2 a 4 semanas, dependiendo de la temperatura de almacenaje, el contenido de fenoles disminuyó y hubo cambios subsecuentes hasta la cosecha. al igual con el contenido de fenoles, el efecto del PAL, aumento, solamente con PPO (polifenoloxidasa) la actividad seguía constante y disminuía. Los ácidos cítrico y ascórbico fueron eficaces en la calidad, también en la vida útil, un retardo importante en la reacción de bronceado.

Sone K. Mochizuki T. (1996) en un estudio en la cualidad alimenticia basada en el azúcar y el grado de ácido orgánico en 43 cultivares de fresa crecidos en cultivos forzados, fueron evaluados y los lazos entre estos caracteres y cualidades alimenticias excelentes tenían un contenido total perceptiblemente mas alto de azúcar, la relación de transformación ácida total de azúcar/ácido orgánico, la relación de transformación ácida de sacarosa/ácido orgánico, y el grado ácido orgánico total mas bajo que éstos con cualidad alimentaría pobre. No había diferencia significativa en el azúcar y los grados de ácido orgánico entre los cultivares con cualidad alimenticia estable e inestable

Quelatación

La quelatación es la habilidad de un compuesto químico para formar una estructura en anillo con un ión metálico resultando en un compuesto con propiedades químicas diferentes a las del metal original. (El quelante impide que el metal siga sus reacciones químicas normales), (Calderón Sáenz F., 1997)

Los iones metálicos existen en solución en una forma altamente hidratada; esto es, rodeadas por moléculas de agua. Al reemplazo de estas moléculas de agua por una molécula de un agente quelante formando una estructura compleja en anillo. Por su parte a la molécula que reemplaza el agua se le llama ligando o quelante. Los ligandos más importantes son: Ácido cítrico, málico, tartárico, ácido Etilen-Diamino-Tetra-Acético (EDTA) y el ácido Tri-Poli-Fosfórico (TPPA), (Calderón Sáenz F.,1997)

Muchos otros compuestos químicos como los ácidos húmicos, lignosulfónicos, los polisacáridos y algunos poli-alcoholes tienen propiedades quelatantes. (Calderón Sáenz F.,1997)

Solo los metales con una valencia igual o superior a +2 forman quelatos en presencia de ligandos. Los iones metálicos con valencia +1 no forman quelatos sino sales con él ligando como anión. La quelatación puede resultar en un compuesto que sea soluble o insoluble en agua. La formación de quelatos estables solubles en agua se llama secuestación.

(Calderón Sáenz F.,1997)

Propiedades químicas.

- ✓ Muchos quelatos metálicos se forman en una proporción molar 1:1 entre el ión metálico y el ligando. Bajo ciertas condiciones se pueden formar complejos estables con una proporción mayor del ión metálico o ligando.
- ✓ La constante de estabilidad es una expresión de la relación entre el ión metálico quelatado y el ión metálico libre. Las fórmulas usadas para determinar las constantes son:

$$\text{Constante de estabilidad } K = \frac{(\text{ML})}{(\text{M}) * (\text{L})} \quad \frac{\text{quelato metálico}}{\text{metal} * \text{ligando}}$$

Dado que la K usualmente los valores de K son muy altos, es común expresarlos en log K:

$$\text{Constante de estabilidad log K} = \frac{\text{Metal quelatado}}{\text{Metal libre}}$$

Metal libre

Cuadro 2.1 Constantes de estabilidad para los quelatos de ácido cítrico más comunes

Ión metálico	Valencia	Constante de Estabilidad Log K.
Fe	+3	12.50
Al	+3	7.00
Pb	+2	6.50
Ni	+2	5.11
Co	+2	4.80
Zn	+2	4.71
Ca	+2	4.68
Cu	+2	4.35
Cd	+2	3.98
Mn	+2	3.67
Mg	+2	3.29
Fe	+2	3.08
Ba	+2	2.98

Cuadro 2.2. Comparación del efecto quelante en Cu del ácido cítrico con otros quelatos.

Ligando	Log K para quelato de Cu ⁺²	% de metal quelatado	% de metal libre
EDTA	11.0	99.99999	< 0.00001
NTA	7.6	99.99999	< 0.00001
TPPA	5.0	99.999	0.00002
Cítrico	4.68	99.998	0.004
Málico	1.80	98.413	0.04
Láctico	1.07	91.67	0.10
Acético	0.53	70.6	0.69

(Calderón,1997)

Cuadro 2.3. Comparación del efecto quelante en Ca del ácido cítrico con otros quelatos.

Ligando	Log K para quelato de Ca	% quelatado	% libre
EDTA	11.0	99.99999	< 0.00001
NTA	7.6	99.99999	< 0.00001
TPPA	5.0	99.999	0.001
Cítrico	4.68	99.998	0.002
Málico	1.80	98.413	1.587
Láctico	1.07	91.67	8.333
Acético	0.53	70.6	29.4

(Calderón.,1997)

Las fórmulas usadas para determinar las constantes de estabilidad de los quelatos reportados en la literatura, usualmente han sido medidos para las condiciones óptimas. La constante de estabilidad de un complejo metálico cambiaría con los cambios de pH. Esto puede afectar la forma en que los complejos reaccionan. En general, los quelatos o no se forman o no son muy estables en condiciones de pH's muy bajos (2-3) ó muy altos (10-12). (Calderón Sáenz F.,1997)

Cuando en un sistema hay más de un metal presente, se formará primero el quelato cuya constante de estabilidad sea más grande, dicho de otra manera, el metal con dicha constante desplazará a los metales con una constante de estabilidad menor.

La fortaleza de los quelantes o ligandos se puede clasificar de acuerdo a sus constantes de disociación. Los ligandos listados a continuación están en orden descendente de sus constantes de disociación.

Cuadro 2.4. Comparación de la fortaleza de los quelantes.

EDTA	Muy fuerte
DTPA	Muy fuerte
NTA	Fuerte
TPPA	Medio
Glucónico	Medio
Cítrico	Medio
Tartárico	Medio
Málico	Débil
Láctico	Débil
Acético	Débil

(Calderón.,1997)

Los ácidos orgánicos.

Pueden tener tres papeles en el medio de cultivo de plantas:

- ✓ Actuar como agentes quelatantes, mejorando la disponibilidad de algunos micro nutrientes.
- ✓ Pueden actuar como amortiguadores en contra de los cambios de pH.
- ✓ Actuar como nutrientes.

Uso como amortiguadores.

Varios autores han encontrado que algunos ácidos orgánicos y sus sales de Sodio y Potasio regulan el pH de solución hidropónica (Trelease y Trelase, 1933), o en medio *in vitro* (Van Overbeek *et-al.*, 1941, 1942; Arnow *et-al.*, 1953), sin embargo, no se admite que sean tan efectivos como los amortiguadores sintéticos.

Por su parte, en los experimentos conducidos por Schenk y Hildebrandt (1972) bajos niveles de iones de citrato y succinato no impidieron el crecimiento de callos de una gran variedad de plantas, y parecen ser estimulantes en algunas especies.

Complejante de metales

Ácidos orgánicos divalentes tales como cítrico, málico, maléico y malónico (dependiendo de las especies) son encontrados en la savia del xilema de las plantas, donde junto con aminoácidos, ellos pueden complejar con iones metal y asistir su transporte (White *et al.*, 1981). Estos ácidos pueden también ser secretados por las células y tejidos del medio de cultivo y contribuirían al efecto de acondicionamiento. Olima y Ohira, (1980) encontraron que los ácidos cítrico y málico, los cuales fueron liberados en el medio por células de arroz

durante la segunda mitad de un lapso de tiempo, pudo haber quelatado el Hierro disponible, para corregir una deficiencia de Fierro.

Papel nutricional

La adición de ácidos orgánicos, involucrados en el ciclo de Krebs, al medio de cultivo pueden incrementar el metabolismo de NH_4^+ . (Gamborg y Shyluk 1970) encontraron que algunos ácidos orgánicos podrían promover la utilización de amonio y la incorporación de pequeñas cantidades de piruvato de sodio, ácido cítrico, málico y fumárico en el medio, fue un factor el cual permitió cultivar células de *Vicia hajastana* a bajas densidades (Kao y Michayluk, 1975). Por su parte Murashige y Tucker (1961), mostraron que el jugo de naranja, adherido a el medio que contiene sales MS, promovió el crecimiento del callo de *Citrus albedo*. El ácido málico y otros ácidos del ciclo de Krebs, también tienen un efecto similar; de estos, el ácido cítrico es el que produce una mayor estimulación del crecimiento, a concentraciones de 10.4 mM puede ser efectivo (Goldschmidt, 1976; Einset, 1978; Erner y Reuveni, 1981)

Aunque los ácidos del ciclo de Krebs pueden actuar como amortiguadores, ellos pueden también actuar como sustratos para la síntesis de aminoácidos de NH_4^+ . Al ser asimilado en aminoácidos por vía de la enzima GDH (Glutamato deshidrogenasa), el ión amonio es más reactivo con el ácido α -Ketoglutarico el cual es producido por el ciclo de Krebs. Esta disponibilidad puede gobernar la proporción a la cual el amonio puede ser metabolizado por esta ruta. (Edwin, 1996). Los ácidos orgánicos pueden facilitar la absorción de NH_4^+ cuando estos son la única fuente de Nitrógeno y por su propio metabolismo, asistir la conversión de NH_4^+ en aminoácidos (Edwin, 1996).

Una vez absorbidos los metales divalentes son mantenidos solubles en gran parte por quelatación con ciertos ligandos celulares, entre ellos ciertos aniones de ácidos orgánicos, especialmente ácido cítrico parece ser el más importante de los ligandos para el transporte de Hierro, Zinc, Manganese a través del xilema (White *et al*, 1981; Mullins *et al.*, 1986).

El ácido cítrico así como una amplia variedad de ácidos orgánicos han sido identificados en los exudados de las raíces de los vegetales comunes, cereales y soya (Manicura y Hovadik, 1985; Riveire, 1960; Tiffin, 1966). Se han postulado que las plantas varían a la susceptibilidad, a las deficiencias de micronutrientes debido a variaciones en las cantidades de los ácidos orgánicos producidos por las diversas especies (Hodgson, 1963; Wallace, 1963). Hoy en día está bien documentado que los exudados de la raíz están involucrados en la liberación de nutrientes en el suelo, los ácidos orgánicos más efectivos en formar quelatos complejos estables con los iones metálicos son aquellos de tipo Hidroxi-tricarboxílicos (Stevenson y Ardakani, 1972) tales como el ácido málico, tartárico, cítrico, glucónico y láctico.

Los micro nutrientes quelatados son generalmente la fuente más efectiva de micronutrientes (Mortvedt, 1979). Entre los diversos agentes quelatantes, el ácido cítrico forma quelatos estables, asimilables y fitocompatibles con la mayoría de los cationes metálicos. El ácido cítrico ha sido usado para la quelatación efectiva de Mg, Ca, Zn, Mn, Fe, Cu, Mo, Co, y otros (Calderón Sáenz F., 1997)

Droop (1961) demostró que la quelatación del Cobre con citrato tiene ventajas sobre el EDTA en suelos altos en Calcio y Magnesio debido a la inferior afinidad del citrato por estos nutrientes. En un experimento simulando sistemas radicales de plantas (Hodgson, Lindsay y Kemper, 1967) demostraron que el ácido cítrico agregado a un bloque de Agar, incrementó 100 veces la difusión de Zinc a partir de $ZnCO_3$, a través del bloque de agar hacia una solución externa.

Se ha demostrado que la excreción de ácidos orgánicos por las raíces de las plantas causa la liberación de fosfatos insolubles en la solución del suelo. (Drake y Steckel, 1955; Pryanishnikov, 1934). M. archesini *et al.*, (1966) estudiaron el efecto de los ácidos orgánicos y de los agentes quelatantes sintéticos en la movilización del fósforo en el suelo. Ellos determinaron que los ácidos cítricos, HEDTA, DTPA y EDTA fueron los más efectivos agentes quelatantes para la movilización del fósforo en suelos alcalinos. El ácido cítrico

mostró una acción claramente superior a los agentes quelatantes sintéticos en suelos ácidos.

Daniel *et al.*, (1966) y Patel *et al.*, (1983) demostraron que el ácido cítrico incrementaba la disponibilidad del fósforo en suelos lateríticos, Struthers y Dale (1950) reportaron que el citrato era el anión más activo en prevenir la precipitación del fosfato en presencia de Hierro y Aluminio.

Mortvedt, 1979 condujo cuatro experimentos en los cuales se comparó la efectividad de varias fuentes de Zinc mezcladas solas o aplicadas con suspensiones de Orto y Polifosfatos a un suelo deficiente de Zinc. El maíz se cultivo por siete semanas y el rendimiento en peso seco y la absorción de Zinc fue determinada a la cosecha en cada experimento. Los resultados mostraron que las fuentes quelatadas de Zinc fueron generalmente superiores a las fuentes inorgánicas. El rendimiento en materia seca fue máximo cuando el Zinc fue aplicado como citrato de Zinc y también como Zinc EDTA.

Generalidades sobre los estomas

La hoja esta cubierta en ambos lados por una capa de células llamadas epidermis, la cual contiene numerosas poros conocidos como estomas y a pesar de pequeño tamaño, estos constituyen una ruta muy eficiente para el intercambio gaseoso, que permite una perdida de agua en forma de vapor las células foliares y se difunden con rapidez al aire mas seco y también explica la dinámica en la fijación de CO₂ Atmosférico (Ray, 1985)

Anatomía del estoma

En la anatomía estomatica, que comprende una estructura que conecta los espacios aéreos interiores de la hoja con el aire extremo, cada estoma esta rodeado por dos células, las células oclusivas o guarda, una a cada lado del orificio llamado ostiolo. Estas células abren y cierran el estoma mediante la

expansión y contracción, contienen cloroplastos. La forma de los poros no es circunferencial sino que generalmente son ovalados y elípticos (Santa Olalla y de Juan 1993). La forma de los estomas es una característica distintiva de los diferentes grupos de plantas, siendo por ejemplo muy conocida la diferencia entre mono y dicotiledóneas en la forma y distribución estomatica (Thomasson, 1997)

Posición de estomas en la hoja

Los estomas se pueden encontrar en diferentes partes de la planta: en las partes florales (pétalos, sépalos), hojas, tallos, 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 adaxial (haz) son principalmente las plantas acuáticas (Willmer, 1983).

En ocasiones, los estomas se presentan solo en la superficie adaxial (haz) de las hojas, pero con frecuencia se les encuentra en ambas superficies, casi siempre con mayor abundancia en la parte abaxial (envés) mientras que las plantas que crecen bajo la superficie del agua carecen de ellos. Los pastos por lo común tienen casi la misma densidad estomatica en ambas superficies (Salisbury y Ross, 1992)

Por otro lado, la cantidad de estomas presentes en la superficie adaxial (haz) en comparación de la abaxial (envés) es característica distintiva de diferentes especies. Las plantas con mayor número de estomas en el haz son llamadas epiestomaticas, las que tienen mayor numero en el envés son hipoestomaticas (caso de la mayoría de las hortalizas), mientras que aquellas con numero aproximadamente igual de estomas en haz y envés son ambiestomaticas (Gates, 1980).

La densidad estomatica

Los estomas son los poros adjuntos a las células guardas, en la epidermis de las hojas, a través de la misma circula el CO₂ y el vapor desde el interior de los

hojas. Los estomas están a un rango de 20 μm de longitud y el área de los poros es de 0.5 a 1.2 % del área foliar (cuando el poro está abierto al máximo). El número de estomas es cerca de uno por cinco células (índice estomático) o de 100 – 450 por mm^2 (densidad estomática), el número de estomas es significativamente alto en la parte abaxial (abajo), que en la parte adaxial (superior), de la hoja (Nedehoff, 1994)

La densidad estomática, el número de estomas por unidad de área presenta una gran componente de variación ambiental, por la que puede diferir entre plantas de la misma especie, entre hojas de la misma planta y entre sectores de una misma hoja (Esau, 1997). Dado que la densidad estomática de las hojas es una característica conveniente de medir al analizar las relaciones agua – planta y para encontrar indicadores que expliquen su rendimiento con relación a la intensidad y duración de la sequía (Pérez y Chan, 1986).

Por lo común cada mm^2 de superficie foliar tiene unos 100 estomas, aunque el número puede ser 10 veces mayor, se ha informado de un máximo de 2,230 (Howard, 1969) sin embargo Roth (1976), informa que la densidad estomática varía entre 1,000 y 10,000 / cm^2 en plantas dicotiledóneas.

Factores sobre la densidad estomática.

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

Por su parte Willmer (1983) indica que los factores de desarrollo genético y ambiental se ven involucrados en la morfogénesis de los estomas. La disponibilidad del agua, la intensidad de la luz, temperatura y concentración de CO_2 se observa con frecuencia afectando la densidad estomática.

Movimiento estomático

Sucede cuando la presión de turgencia dentro de las células oclusivas aumenta, cuando hay mucha agua, las células se hinchan es cuando se tornan

turgidas, asumiendo la forma de un plátano. Al hincharse esas dos células el espacio entre ellas aumenta, esto permite que el agua escape. Cuando disminuye la presión de turgencia, es decir, cuando se ha evaporado mucha agua las células oclusivas se tornan flácidas, entonces las paredes engrosadas se aproximan, la hendidura entre ellas se cierran (Salisbury y Ross, 1991; Curtís, 2000).

Factores de movimiento estomático

A continuación se mencionan los posibles factores de movimiento estomático

Agua: Cuando el agua a disposición de una hoja cae por debajo de cierto punto crítico (varia según la especie) los estomas se cierran, limitando así la posterior evaporación. Esto no es un efecto directo, el cierre de estomas ocurre mucho antes de que la hoja pierda su turgencia y se marchite. El ABA (ácido absicico) es una hormona que influencia los mecanismos de control hidroactivo y se forma cuando hay reducción de agua en las plantas, formándose ABA y provocando un ligero cierre de los estomas para impedir la pérdida excesiva del potencial hídrico en la planta. (Bidwell, 1993).

Dióxido de carbono: En la mayoría de las especies, un incremento en la concentración de dióxido de carbono en los espacios porosos intercelulares de una hoja causa el cierre de los estomas y las bajas concentraciones promueven la apertura de estos, mas sin embargo, la exposición a la luz pronto causan la apertura estomática, porque el CO₂ del interior de la hoja es consumido en la fotosíntesis.

Luz: Es un fuerte factor de control, los estomas se abren a la luz y se cierran a la oscuridad. Esto está asociado a los cambios en la concentración de CO₂; la fotosíntesis consume CO₂ lo que afecta la apertura estomática, mientras que la respiración provoca que la concentración de CO₂ aumente.

Temperatura: Esta influye sobre la apertura estomática. Al incrementar la temperatura se acentúa la apertura de los estomas mientras el agua no llegue a ser una limitante. Este parece ser un mecanismo protector contra el calentamiento ya que la evaporación del agua transpirada ejerce un efecto refrescante (Salisbury y Ross, 1991; Curtís, 2000).

El cultivo del manzano

El manzano es un árbol de tercera dimensión, pues su altura es de 3.0 a 10.0 metros, de raíces con magnitudes de 3.0 a 8.0 metros ;su tronco generalmente es tortuoso y tiene ramas gruesas, copa ancha y poco regular, la raíz del manzano no es típica, rastrera, ramificada, con derivaciones secundarias extendidas y una masa de raicillas que en conjunto, forman la cabellera, poseen cofia y pelos absorbentes y alcanzan una longitud vertical de 1.5 a 2.0m y una longitud horizontal de 3.0 a 6.0 m.

Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica del manzano según (Razeto, B. 1993) es la siguiente:

Reino-----vegetal
División-----Traqueófitas
Subdivisión-----Pteropsidas
Clase-----Dicotiledónea
Subclase----- Rosidae
Orden-----Rosales
Familia-----Rosaceae
Genero-----Malus
Especie-----Domestica

El tallo: es un órgano que se desarrolla a partir del embrión de la semilla; al principio es herbáceo y efectúa cierta acción fotosintética, función que posteriormente pierde al hacerse leñoso y constituirse en el tronco definitivo.

Las hojas: son caducas, alternas, acuminadas (es decir terminan en punta corta, aserrada y con dientes obtusos) Son de un color verde oscuro por el haz y leñoso y blanquecino por el envés y lo doble de largo que el pecíolo, de cuatro a ocho nervios alternados y bien desarrollados.

La flor: son grandes, casi dentadas o cortamente pedunculadas; abren unos días antes que las hojas; son hermafroditas de color rosa pálido y a veces blancas, en números de tres a seis unidades en corimbo. Un árbol carga alrededor de 100,000 flores, pero solo basta con que el 2 al 4% de estas lleguen a un buen término para que la fructificación sea suficiente y se logre una buena producción (Kramer, 1982, citado por Hernández, 1982)

Es una inflorescencia, es un corimbo formado de tres a ocho flores, cada botón floral tiene en su base dos yemas de madera; los botones florales pueden ocupar una posición lateral sobre la madera de dos años. Las flores son del grupo pentámero, con los estambres en la parte alta del pistilo; el ovario presenta cinco alvéolos formados por la testa y el tegumento. El embrión contiene una radícula, el talluelo y dos cotiledones que envuelven a la plúmula; estos cotiledones son utilizados como reserva nutritiva. (Ramírez y Cepeda 1993)

El fruto: pertenece al tipo de pomo y cuenta con cinco alvéolos; el endocarpio es cartilaginoso y en cada alveolo están las semillas; el pedúnculo del fruto es longitud variable, el cáliz es persistente y forma el ojo colocado en una depresión mas o menos regular y profunda; la forma del fruto depende de la variedad aunque es generalmente esférica. (Ramírez y Cepeda 1993)

La semilla: es un óvulo que alcanza su maduración, se constituye por tegumentos o cubiertas que lo envuelven y otro órgano llamado almendra, que forma la mayor parte de la semilla; los tegumentos se encuentran en producción, (Ramírez y Cepeda 1993)

MATERIALES Y METODOS

Localización geográfica

El presente trabajo de investigación se realizó en el mes de abril del 2001 a Octubre del 2002 en el Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, con domicilio en la Ex-Hacienda Buena vista Saltillo Coahuila Méx. Km. 7.5 carretera Saltillo – Concepción del Oro cuyas coordenadas geográficas responden a los 25° 22” latitud Norte 101° 00” Longitud Oeste con una altitud de 1743 msnm, con una precipitación media anual de 460.7 mm y con una humedad relativa media anual de 46.8 %.

Material utilizado

Material vegetativo

Se utilizaron 40 árboles de manzano (*Malus Domestica*) de la variedad Golden viga injertados en banco 106 con dos años de edad.

Banco 106 otorga un 70% de vigor en relación con un patrón franco esta ampliamente difundido en varios países por su alto potencial productivo, vigor moderado, libre de sierpes y resistencia a pulgón lanigero.

La variedad Golden viga (mutante): En comparación de otras variedades requiere menor cantidad de horas frío (750), presenta un alto amarre de fruto en la última semana de febrero y la primera de marzo, su forma del fruto es chata, por lo que puede cosecharse 15 días antes que la golden normal (Ramírez, H., y López- Bernal, et 1985)

Materiales utilizados

Se utilizaron como macetas 40 botes con una capacidad de 50 litros donde se llenaron con una mezcla al 50% v/v de arena salicilica y peat moss de la marca TBK Premier en donde los árboles fueron fertilizados con una solución douglas con una $CE .89 \text{ mSm}^{-1}$ y pH 7.3 en cantidad de 12 litros por maceta, esta solución se aplico dos veces por semana la primera vez iniciando la semana, otro riego a mitad de semana y la segunda fertilización el fin de semana. Los ácidos orgánicos (cítrico, benzoico), se aplicaron cada dos semanas (15 días), disueltos en la solución nutritiva.

Establecimiento del experimento

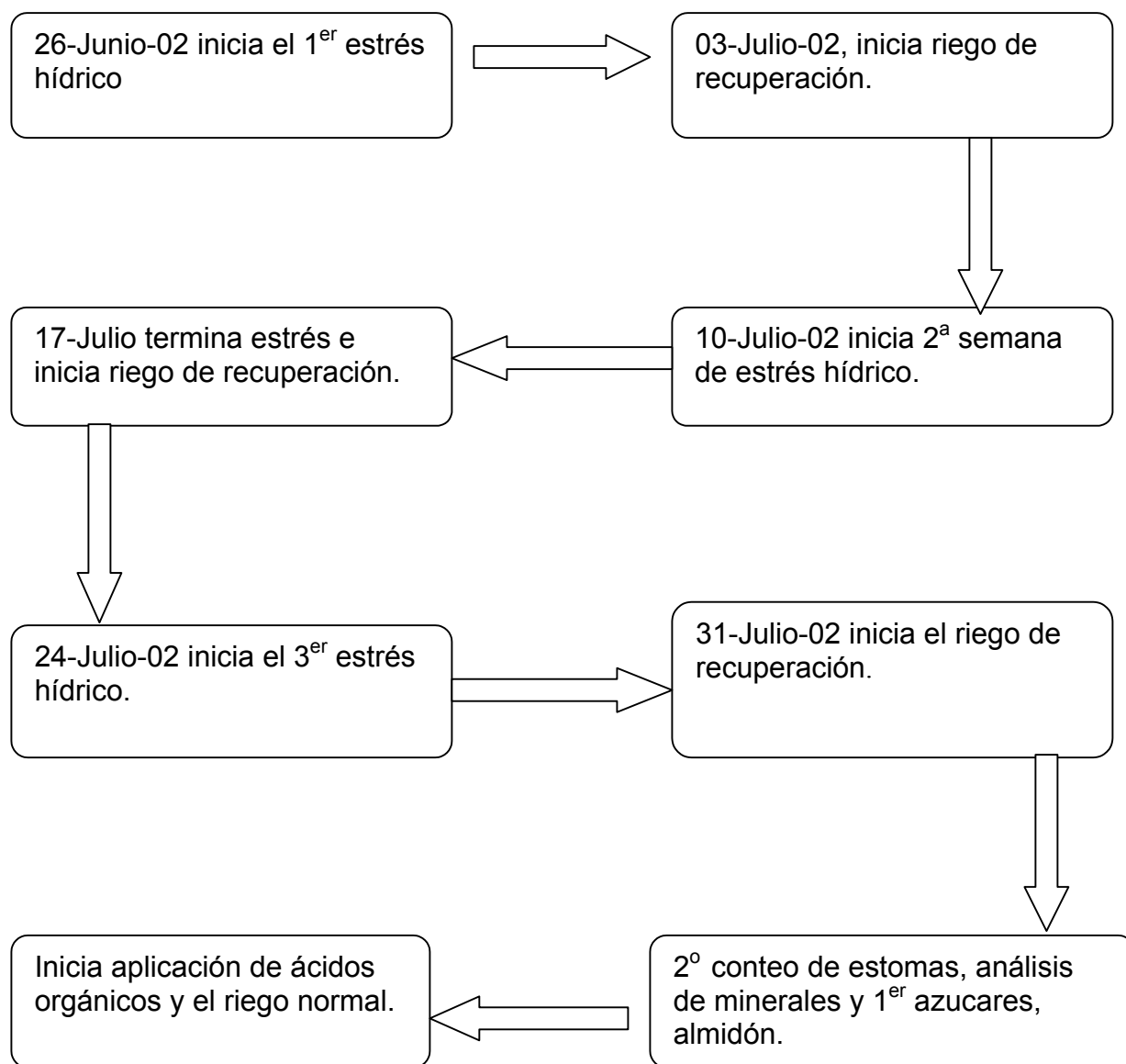
Los árboles fueron adquiridos en el rancho del Ing. Nacho Gonzáles, (06 abril del 2001), fueron puestos en un hoyo mientras se transplantaban para evitar la deshidratación de las raíces, posteriormente estos fueron plantados en las macetas de plástico de 20 litros en donde fueron colocados dentro del invernadero numero 3 ubicado en Departamento de Horticultura, para después iniciar la aplicación de la solución douglas dos veces por semana de acuerdo a lo descrito por Douglas (1976)

Una vez establecido el trabajo se distribuyeron los tratamientos, usando el diseño experimental completamente al azar quedando 5 tratamientos y 8 repeticiones para después asignarles el numero de tratamiento y repetición. Después de permanecer 7 meses (abril- noviembre) en el invernadero, estos fueron colocados a campo abierto y a la vez se aumento la capacidad de los botes de 20 litros a 50 esto debido al tamaño de las raíces que estos presentaban, otro factor importante por el cual se decidió cambiarlos a cielo abierto fue debido al desequilibrio de temperaturas que se presentaron dentro, afectándoles a estos para reunir la cantidad de horas frío que el frutal del manzano, fisiológicamente requiere de un periodo invernal, el cual pasa en

estado de letargo una vez que se ha defoliado. Este estado le permite endurecer su madera y demás órganos aéreos, obteniendo protección contra las temperaturas de congelación que se presenta durante el periodo invernal. Esta necesidad hace brotar en primavera las yemas florales y vegetativas. Transcurrido esto se continuó con la aplicación de los ácidos orgánicos y la solución nutritiva (douglas) con una conductividad eléctrica de $.89 \text{ mS m}^{-1}$ y con un pH de 7.3, aplicándoles a estos una cantidad de 12 lts/maceta para que los árboles tuvieran una mejor respuesta de adaptación en las macetas, transcurridos estos mismos meses del año se hizo una poda de formación para eliminarles la dominancia apical y a la vez proporcionarles una estructura buena al frutal para cuando produzcan frutos.

Las aplicaciones de los ácidos orgánicos se hizo a diferentes concentraciones: ácido cítrico (AC) 10^{-3} M y AC 10^{-4} M , Benzoico (AB) 10^{-4} M , AB 10^{-5} M . Se hizo cada 2 semanas (15 días) aplicando por cada tratamiento 12 litros de agua para abastecer las necesidades del manzano. Estas aplicaciones tuvieron una duración aproximada de 18 meses (abril del 2001 a octubre del 2002). Después de esto se procedió a aplicar tres eventos de estrés hídrico en las plantas de manzano como a continuación se describe.

Cuadro 3.1. Eventos de estrés hídrico



Diseño experimental y tratamientos

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 5 tratamientos y 8 repeticiones.

T0 Testigo

T1 ácido benzoico 10^{-4} M

T2 ácido benzoico 10^{-5} M

T3 ácido cítrico 10^{-3} M

T4 ácido cítrico 10^{-4} M

Variables evaluadas

Conteo de estomas en hojas

Primeramente para esta variable se buscaron ramas orientadas al poniente siendo la segunda rama y de esta tomando la cuarta hoja de arriba hacia abajo para después ser llevadas al laboratorio y preparar una porción de poliestireno con xileno para diluirlo en una caja petri obteniendo una solución viscosa, después se aplicó con la yema del dedo un poco de esta mezcla en el haz y el envés, se dejó ventilar por unos minutos y después, con una cinta de pegar le fue puesta para poder sacar una impresión tanto del lado adaxial como abaxial para después contabilizar el número de estomas. al inicio se tenía pensado contabilizar las células tabloides pero debido a su poca visibilidad de estas en el microscopio no se llevó a cabo, esta práctica se determinó 2 veces la primera fue en el mes de septiembre del 2001 después de un tiempo de estar aplicando los ácidos orgánicos y la solución douglas, la segunda vez se hizo en agosto del 2002 del siguiente año este conteo ya tenía aplicado el evento de estrés hídrico, contando ya con esto se procedió hacer el conteo de estomas con la

ayuda del microscopio de tipo compuesto de la marca Rossbach, se uso el objetivo 40X, se seleccionaron cuatro campos diferentes de cada muestra (envés) contando así el numero de estomas por cada campo, para sacar el área del campo en el microscopio; Se dividió el numero del ocular (10 X) sobre el numero del objetivo de (40 X) obteniendo un diámetro de 0.25 mm en el plano del objetivo, con este dato se saco el área del campo utilizando la formula de $a = \pi r^2$ teniendo así $A = 0.0491\text{mm}^2$ de área (campo).

Determinación de elementos minerales

Se realizaron dos determinaciones de nutrientes en las hojas, una fue después de 5 meses de haberse establecido el experimento, esto ya con las aplicaciones de ácidos orgánicos, y solución douglas, la segunda determinación fue después de año y medio con la aplicación de los eventos de estrés hídrico (octubre del 2002) en donde los elementos determinados fueron N, P, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Na, Cu, estos se reportaran en % y ppm dependiendo del elemento, se utilizo un destilador de microkjeldahl marca LABCONCO para determinación de N, el fósforo se determino por el medio de Olsen, y por absorción atómica para los otros elementos. Estas muestras de hojas se tomaron de cada tratamiento (TO, T1,T2, T3, T4), escogiéndose al azar estando orientadas hacia al oriente tomando de cada árbol la cuarta hoja del ápice de la segunda rama con brotes del año.

Desarrollo fenológico

Para esta variable se utilizo un vernier y cinta métrica, para el diámetro basal se tomo la lectura 5 cm arriba del injerto, para el diámetro de la punta se tomo 20 cm después del punto de crecimiento del año, para el crecimiento en longitud del año se hizo con una cinta métrica, a partir del punto de crecimiento hasta la punta del mismo, para el conteo del número de hojas se tomo de referencia desde las brotadas de la base hasta la punta estas mediciones y conteos se

hicieron dos veces una el primer año de crecimiento, y la segunda el siguiente año.

Determinación de C.E y pH

Se utilizó un potenciómetro para la determinación del pH y para la conductividad eléctrica se hizo con un conductímetro estas determinaciones se aplicaron a la solución douglas y a los ácidos orgánicos por separado

Contenido de almidones

Se utilizó el método de AOAC; 1980; se determinó el % de almidón en las hojas de cada uno de los tratamientos, obteniendo una media del muestreo.

Contenido de azúcares totales

Se determinó el contenido de azúcares en las hojas de manzano, por el método: "Colorimetric method for determination of sugar and related substances" descrito por Dubois M., *et al.*, (1956) y se reportará en miligramos de azúcares por gramo de muestra.

Contenido de azúcares reductores

Se determinó la concentración de azúcares reductores en hojas por el método "Use of Dinitrosalicylic Acid reagent for determination of reducing sugar" (Miller, 1959) y es reportada en miligramos de azúcares reductores por gramo de muestra.

RESULTADOS Y DISCUSION

Cuadro 4.1 Concentración de nutrientes minerales en hojas de manzano con ácidos orgánicos y solución douglas sin evento de estrés hídrico, (ppm y %)

Tratamiento	Cu ppm	Mn ppm	Zn ppm	Fe ppm	Na %	Mg %	Ca %	K %	N %	P %
Testigo	1	72	31	184	0.0135	0.249	1.220	1.419	1.9	1.40
AB 10^{-4} M	1	83	27	60	0.0096	0.399	2.039	1.715	1.7	0.77
AB 10^{-5} M	2	114	26	161	0.0124	0.416	2.114	1.433	1.5	1.47
AC 10^{-3} M	1	98	23	146	0.0180	0.467	2.549	1.612	1.5	1.20
AC 10^{-4} M	1	122	24	217	0.0078	0.574	3.067	1.509	1.9	1.18

Valores del primer muestreo de minerales

Al aplicar los ácidos orgánicos cítrico y benzoico hubo un aumento en los minerales tales como el Cu, Mg, Ca, K y P. Como se muestra en el cuadro (4.1) esto sucedió antes de la primera aplicación de estrés hídrico siendo iguales a los reportados por Al-Baahrany y Al-Shabaan al aplicar ácido cítrico y oxálico en tomate en suelo calcáreo. Para el Fe y Zn los mismos autores reportaron incrementos, mientras que en el manzano, a excepción del tratamiento de AC 10^{-4} M, lo que obtuvo fue disminución en estos elementos. Es probable que esta última respuesta dependa del sustrato utilizado en este caso peat moss. Por otra parte se requiere determinar la concentración óptima de ácidos orgánicos, que según los resultados parece ubicarse en valores menores a 10^{-4} M.

Cuadro 4.2 Mediciones de crecimiento en la morfología del manzano, sin estrés hídrico.

<i>Tratamientos</i>		Diámetro Basal	Diámetro Punta	Longitud Crecimiento	Nº hojas
T0	Testigo	2.10 a	.850 a	68.06 a	36.88 a
T1	AB 10 ⁻⁴ M	1.99 a	.838 a	73.69 a	40.13 a
T2	AB 10 ⁻⁵ M	2.05 a	.875 a	62.56 a	36.50 a
T3	AC 10 ⁻³ M	2.18 a	.813 a	68.87 a	37.25 a
T4	AC 10 ⁻⁴ M	2.13 a	.838 a	68.63 a	41.75 a

Los promedios de la misma letra no son diferentes según la prueba de Duncan ($P \leq 0.05$)
Primer muestreo de morfología de manzano

Para estos parámetros evaluados no se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos de las variables (Cuadro 4.2), en lo que respecta a diámetro basal, diámetro de la punta, longitud en crecimiento y número de hojas por planta. El cual no coincide con Ramos Martines J. F. (2002), donde reporta un incremento en biomasa, modificación en el crecimiento y desarrollo en plántula de lechuga. No coincidiendo tampoco con Salazar Torres (2001) donde reporta un incremento en biomasa en plántulas de chile.

Tampoco coincide con Palafox Arenas (2001) donde el AB aplicado foliarmente dio un efecto positivo sobre el crecimiento y desarrollo en planta de melón. Esto quizá se deba a que es un frutal caducifolio comparado con las hortalizas.

Cuadro 4.3 Promedios de índice estomático evaluados en el envés de la hoja de manzano sin estrés hídrico.

Tratamientos		Índice estomático en envés
T0	Testigo	789 b
T1	AB 10^{-4} M	1041.24 a
T2	AB 10^{-5} M	791.75 b
T3	AC 10^{-3} M	1038.70 a
T4	AC 10^{-4} M	1036.15 a

Los promedios de la misma letra no son diferentes según la prueba de Duncan ($P \leq 0.05$)

En este primer muestro de índice estomático se observaron diferencias significativas en la densidad estomática entre tratamientos siendo mejor los tratamientos con AC 10^{-4} M AC 10^{-3} M, donde se muestra en la (figura 1) gráficamente. Esto coincide con Salazar Torres, (2001) y con Ramos Martínez en el (2002) donde reportan un incremento en la densidad e índice estomático en planta de lechuga y de chile. En el (Cuadro 4.3) se muestra diferencia significativa entre los tratamientos que se aplicó ácido cítrico y ácido benzoico en relación con el testigo .

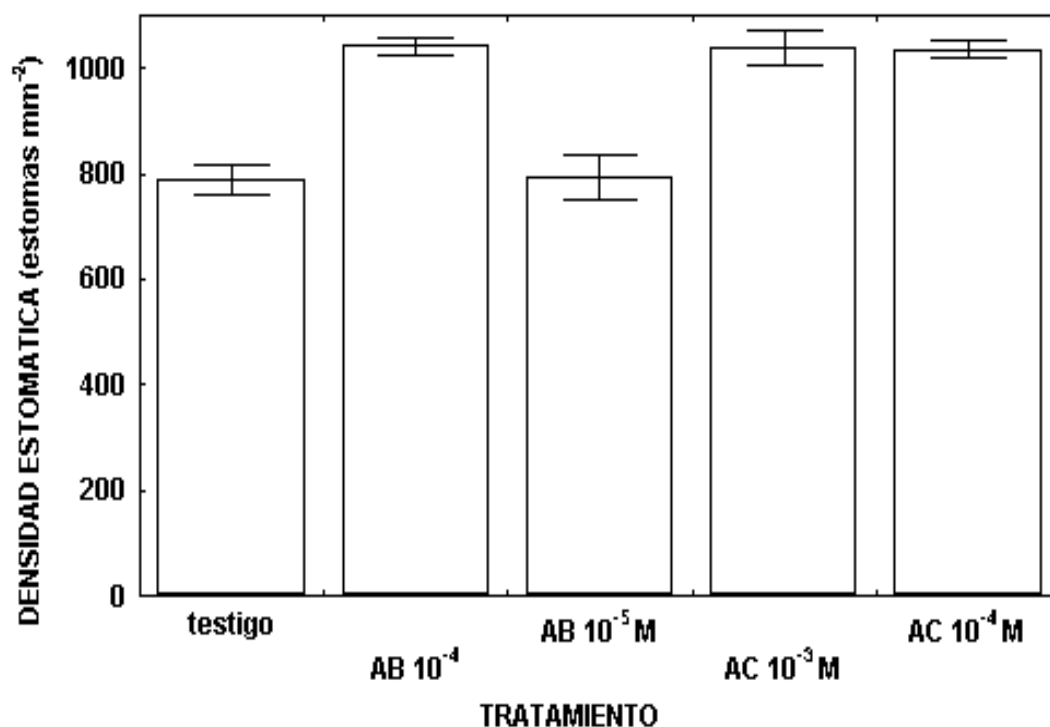


Figura 1. Densidad estomática abaxial en hojas de manzano con aplicación de ácidos orgánicos.

Cuadro 4.4. 2^a determinación de nutrientes minerales en hojas de manzano con estrés hídrico, (ppm y %)

Tratamiento	Cu ppm	Mn ppm	Zn ppm	Fe ppm	Na %	Mg %	Ca %	K %	N %	P %
Testigo	8	87	46	270	.079	7.174	2.228	1.843	1.61	0.229
AB 10 ⁻⁴ M	7	78	32	223	0.66	7.823	2.557	2.087	1.61	0.229
AB 10 ⁻⁵ M	7	99	32	269	0.086	7.634	2.209	1.97	2.31	0.229
AC 10 ⁻³ M	7	77	30	232	0.086	7.702	2.305	2.067	1.82	0.2125
AC 10 ⁻⁴ M	10	76	25	208	0.078	5.811	1.616	1.436	2.59	0.2040

Valores del segundo muestreo de minerales

En esta segunda determinación de nutrientes minerales no se observó comportamiento diferente al primer muestreo ya que al aplicar los ácidos orgánicos cítrico y benzoico hubo un aumento en los mismos minerales tales como el Cu, Mg, Ca, K, P. Como se muestra en el cuadro (4.4). Esto sucedió después de la aplicación de los estrés hídricos siendo iguales a los reportados por Al-Baahrany y Al-Shabaan al aplicar ácido cítrico y oxálico en tomate en suelo calcáreo. Lo mismo que lo anterior mencionado por los mismos autores mencionaron un incremento para el Fe y Zn, mientras que en el manzano, a excepción del tratamiento de AC 10^{-4} M, con respecto al testigo lo que obtuvo fue disminución en estos elementos. Es probable que esta última respuesta dependa del tipo de sustrato utilizado para el soporte del árbol como anteriormente se menciona.

Cuadro 4.5 Mediciones de crecimiento en la morfología, aplicado el estrés hídrico.

<i>Tratamientos</i>	Diámetro Basal	Diámetro Punta	Longitud Crecimiento	Nº hojas
T0 Testigo	27.31a	11.92 a	70.88 a	28.50 a
T1 AB 10^{-4} M	28.56 a	24.79 a	68.13 a	31.88 a
T2 AB 10^{-5} M	26.68 a	11.04 a	63.88 a	30.00 a
T3 AC 10^{-3} M	304.15 a	12.12 a	72.63 a	31.00 a
T4 AC 10^{-4} M	28.00 a	11.50 a	67.94 a	33.00 a

Los promedios de la misma letra no son diferentes según la prueba de Duncan ($P \leq 0.05$)
Segunda determinación de morfología del manzano

No se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos de las variables (Cuadro 4.5), en lo que respecta a diámetro basal, diámetro de la punta, longitud en crecimiento y número de hojas por planta. El cual no coincide con Ramos (2002), donde reporta un incremento en biomasa,

modificación en el crecimiento y desarrollo en plántula de lechuga. No coincidiendo tampoco con Salazar Torres (2001) donde reporta un incremento en biomasa en plántula de chile. Tampoco coincide con Palafox Arenas (2001) donde el AB aplicado foliarmente presento un efecto positivo sobre el crecimiento y desarrollo en planta de melón. Esto quizá se deba a que es un frutal caducifolio comparado con las hortalizas.

Cuadro 4.6 Promedios de conteo del índice estomático aplicando el estrés hídrico.

<i>Tratamientos</i>		Índice estomático en envés
T0	Testigo	730.65 c
T1	AB 10^{-4} M	723.01 c
T2	AB 10^{-5} M	738.29 c
T3	AC 10^{-3} M	1046.33 a
T4	AC 10^{-4} M	888.49 b

Los promedios de la misma letra no son diferentes según la prueba de Duncan ($P \leq 0.05$)

Se observaron diferencias significativas en la densidad estomática entre tratamientos siendo el mejores los tratamientos con AC 10^{-4} M AC 10^{-3} M, donde a continuación se muestra gráficamente en la (Figura 2). Coincidiendo con Salazar Torres, (2001) y con Ramos Martínez en el (2002) donde reportan un incremento en la densidad e índice estomático en planta de lechuga y de chile.

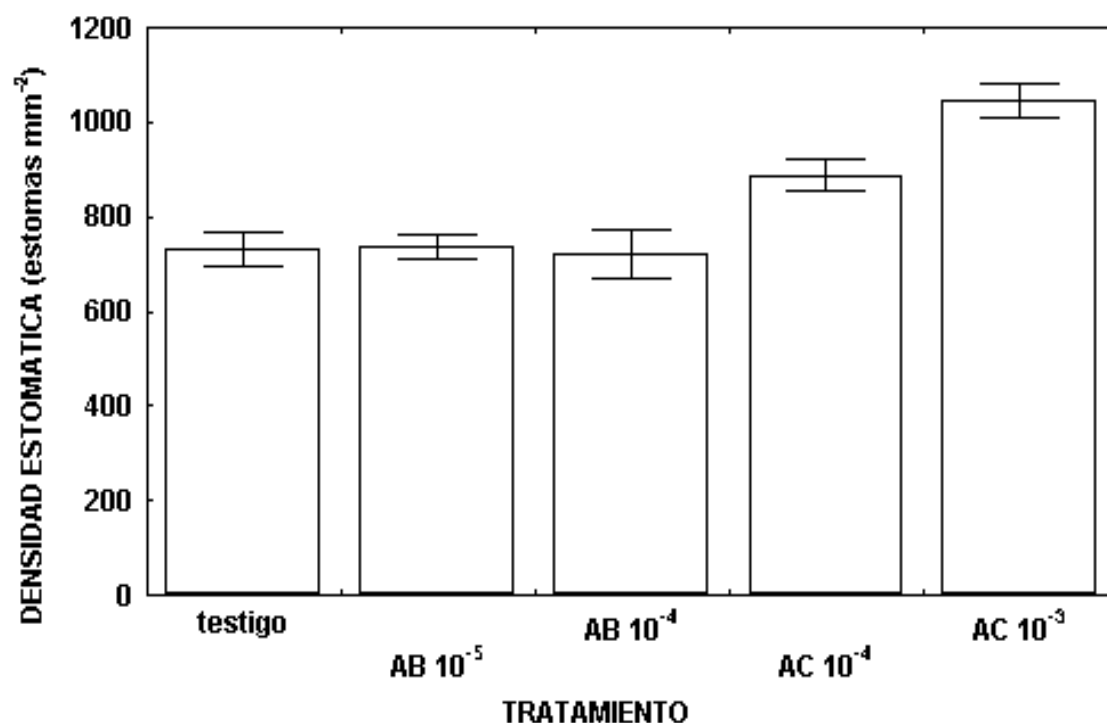


Figura 2. Densidad estomática abaxial en hojas de manzano con aplicación de ácidos orgánicos y los eventos de estrés hídrico.

Cuadro 4.7 Promedio de frutos de manzana realizado dos veces.

Tratamientos		Frutos 1	Frutos 2
T0	Testigo	7.75 a	5.13 a
T1	AB 10 ⁻⁴ M	6.25 a	2.50 a
T2	AB 10 ⁻⁵ M	6.63 a	6.38 a
T3	AC 10 ⁻³ M	6.13 a	4.88 a
T4	AC 10 ⁻⁴ M	7.38 a	5.50 a

Los promedios de la misma letra no son diferentes según la prueba de Duncan ($P \leq 0.05$)

No se obtuvieron diferencias significativas, para los frutos estos comparados con el testigo. Donde no coincide con García Pacheco (2002) donde reporta un incremento significativo del fruto en planta de tomate.

Cuadro 4.8 Valores promedios de almidón, azúcares totales y azúcares reductores.

Tratamientos	Almidón %	Azúcares reductores (mg.g ⁻¹)	Azúcares totales (mg.g ⁻¹)
T0 Testigo	94.033187	0.0201112	0.0626955
T1 AB 10 ⁻⁴ M	106.9589	0.0196869	0.0638328
T2 AB 10 ⁻⁵ M	391.83347	0.0277483	0.0609895
T3 AC 10 ⁻³ M	199.83122	0.0235055	0.0649701
T4 AC 10 ⁻⁴ M	75.63725	0.0192626	0.0584305

Determinación de % de almidón, Azúcares totales en mg/g-l, Azúcares reductores mg/g-l

Contenido de Almidón

El efecto sobre la aplicación de ácidos orgánicos, esta claramente marcado ya que hubo una mayor cantidad de almidones en todos los tratamientos a excepción del tratamiento de AC 10⁻⁴ M donde se observa una disminución de almidón esto comparado con el testigo cabe remarcar que esta determinación se llevo acabo en hojas de manzano. Badui,(1981), reporta que el almidón se encuentra en los cereales, tubérculos y en algunas frutas como polisacárido de reserva energética y su estado de madurez del fruto.

Concentración de Azúcares Reductores:

En la concentración de azúcares totales se observó que hubo un pequeño incremento entre los tratamientos observándose un mejor contenido en el tratamiento, AB 10^{-5} M. No coincidiendo con García-Pacheco (2002) quien reportó incremento en azúcares totales en frutos de tomate aplicando AC 1×10^{-4} M.

Concentración de Azúcares Totales:

Al comparar los tratamientos (Cuadro 4.8), se observa que hay un aumento en la concentración de azúcares reductores para el tratamiento AC 10^{-3} M al aplicársele Ácido Cítrico. Esto concuerda con lo dicho por Servaites *et al.*, (1989), que menciona que la concentración de sacarosa en hojas y tallos de las plantas, presentan una correlación inversa con el contenido de almidones en los tejidos. Normalmente los niveles altos de sacarosa indican una mayor tasa de transporte de fotosintatos y se relacionan positivamente con la productividad.

CONCLUSIONES

- Las respuestas observadas en las plantas frente a los ácidos orgánicos se refirieron al contenido de minerales en el tejido foliar y a la densidad estomática, no observándose cambios significativos en la morfología y crecimiento de la planta.
- Se observó un incremento en la concentración de cationes y una disminución en los aniones en el tejido foliar con la aplicación de estrés hídrico y sin la aplicación del mismo.
- La densidad estomática abaxial aumentó como respuesta a la aplicación de ácidos orgánicos.
- Los azúcares totales y reductores se ven incrementados al aplicar ácidos orgánicos.
- Se concluye que el AC, AB, son repetibles en árboles de manzano en lo que respecta densidad estomática, absorción de minerales, a excepción de incremento en biomasa en donde no se observó diferencia significativa en los árboles.

LITERATURA CITADA

AL-BAHRANY, A.M. Y A.M. AL-SHABAAN. 1995. The effect of oxalic and citric acids on the plant absorption of phosphate and other nutrients from fertilizer added to calcareous soil. *Annals Agric. Sci.* 40:943-951.

AOAC. 1980. *Official Methods of Analysis of the Association Official Analytic Chemist.* Washington, D.C. USA. pp 145, 152, 944.

BADUI DERGAL SALVADOR. 1981. *Química de los alimentos.* Cuarta reimpresión. Editorial ALHAMBRA MEXICANA.

BALDASSARI, T., *Fruticultura industrial con nueva palmeta*, Mundi prensa, Madrid, España, 1983.

BIDWELL R. G. S 1993. *Fisiología Vegetal.* AGT. Editor, S. A. México.

BONER W. A y CASTRO A. J *Química Orgánica Básica* Ed. Alambra Universidad.
www.cccb.ulpgc.es/quimica/usuarios

BULTITUDE, J. Apples . A. guide to the identification of international varieties , University of Washington Press, 1983.

CALDERON SAENZ FELIPE. 1997. Todo sobre los quelatos.
www.drcalderonlabs.com/Publicaciones/Cartilla_Quelatos.pdf

CALDERON, A. E., *Fruticultura general*, Ech, México 1997.

CEPEDA, S. M., *El cultivo del Manzano Pyrus Malus L.* Folleto de seminario de la maestría en parasitología Agrícola, ITESM, Monterrey, N. L., 1979.

DUBOIS M., GUILLES K. A., HAMILTON J. K., REBERS P. A. & SMITH F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28:530.

EDWIN F. GEORGE. 1993. Plant propagation by tissue culture. 2nd Edition. Great Britain. Editorial Butler and Tanner Ltd.

EINSET J.W. 1978. Citrus tissue culture – simulation of fruit explant cultures with orange juice. Plant Physiology. 62, 885-888.

ERNER Y. & REUVENI O. 1981. Promotion of citrus tissue culture by citric acid. Plant Physiology. 67, (Suppl.) 27 (Abst. 146).

ESAU, K. 1997. Anatomy of seed plants. John Wiley & Sons, Inc. New York.

FRUTICULTURA MEXICANA “Fertilización de árboles frutales”, Boletín CONAFRUT, México, 1979.

GARCIA PACHECO CESAR. 2002. Efecto del ácido cítrico y dos concentraciones de sales de la solución nutritiva sobre producción, calidad de tomate y en la absorción de nutrientes.. Tesis de licenciatura UAAAN.

GAMBORG O.L. & SHYLUK J.P. 1970. The culture of plants cell with ammonium salts as a sole nitrogen source. Plant Physiology. 45, 598-600.

GATES, D. M 1980. Biophysical ecology. Springer- Verlag New York, Inc. New York

HOCHMUTH G.J., HOCHMUTH R.C.& DONLEY M.E. 1993. Eggplant yield in response to potassium fertilization on sandy soil. Hort Science 28 (10). 1002-1005.

HODGSON, J.F., LINDSA, Y W.L., KEMPER,W.D. 1967. Contribution of fixed charge and mobile complexing agents to the diffusion of Zinc. Soil. Sci. Soc. of Amer.Proc. 31: 410-413.

HOMERO RAMÍREZ R., 1993. El manzano.México:Trillas:UAAAN.

HOWARD, 1969. Stomatal Density and Responsiveness of Banana Fruit Stomates Plant Physiology 41: 99 101.

JIMÉNEZ, G. E. H y LUIS, A. A., Estudio fenológico de los principales cultivares de manzano en la Región de Canatlan Durango., Campo Agrícola Experimental Valle de Guadiana , CIANOL, INIA, SARH, 1976.

KAO K.N. & MICHAYLUK M.R. 1975. Nutritional requirements for growth of Vicia hajastana cells and protoplasts at a very low population density in liquid media. Planta 126, 105-110.

KETERLLARPAR, H. J . 1963. Stomatal Physiology. ANN. Rev. Plant Physiology. 14: 249-270.

KURUVADI, S. 1989. Frecuencia y Tamaño de los estomas en ambientes de Riego de Temporal en Frijol común Phaseolus vulgaris L. Revista Agraria Científica . UAAAN 5 (1) 14-28.

LOPEZ-BUCIO, J., M.F. NIETO-JACABO, V.V. RAMÍREZ-RODRIGUEZ, L. HERRERA ESTRELLA. 2000. Organic acid metabolism in plants: from adaptative physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils. Plant Sci. 160:1-13.

LOPEZ, M. J .G., Evaluación fenológica de mutantes locales de manzano C. V. Golden Delicious, Tesis profesional, UAAAN, 1982.

LATTANZIO, V., LINSALATA V., PALMIERI S. Y SUMERO C. F. 1989. El efecto Benéfico de los ácidos Cítrico y Ascórbico en la reacción del Bronceado phenolic en la alcachofa. Centro de estudio Horticultura Industrial. Bari, Italia. 33: 2, 93-106.

MC MURRY, J. Química Orgánica . Grupo Editorial Ibero América.

MELTON R. REGINA & DUFAULT J. ROBERT. Nitrogen, phosphorus and potassium fertility regimes affect tomato transplant growth. Hort- Science 26(2): 141-142.

MILLER G.L. 1959. Use of Dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. Anal. Chem. 31, 426-428.

MORRISON- BOYD Química Orgánica . Ed Addison – Wesley.
MORTVEDT, J.J. 1979. Micronutrient Technology and use in the United States. Presented at the India/FAO/Norway Seminar on Micronutrients in Agriculture, New Delhi, India, Sept. 17-21.

MULLINS M.G., SRISKANDARAJAH S. & NOITON D. 1986. Enhanced capacity for adventitious root formation in apple microcuttings by conditioning of mother cuttings. Acta Hort. 179, 873.

MURASHIGE T. & TUCKER D.P.H. 1969. Growth factor requirements of citrus tissue culture. pp. 1155-1161 in Chapman H.D. (ed.) Proc. 1st Int. Citrus Symp. Vol. 3, University Calif., Riverside Publication.

OJIMA K. & OHIRA K. 1980. The exudation and characterization of iron-solubilizing compounds in a rice cell suspension culture. Plant Cell Physiology. 21, 1151-1161.

PÉREZ , B. H. Y CHAN, C. J. L 1986. Densidad estomatal del Duraznero y Nectario de Riego y del Duraznero de Temporal . Fitotecnia 8: 177-186.

PRIMO YUFERA, E Química Orgánica Básica y aplicada . Tomo 1. Ed. Reverte S. A.

RAZETO, B. 1993. Para Entender la Fruticultura. Santiago, Chile. 314 p..

[http:// www.ipm.ucdavis.edu](http://www.ipm.ucdavis.edu).

RAMÍREZ, H. Y URIU K., Efecto de sequía en diferentes épocas en chabacano (Prunus Arménica L.), en publicación técnica, numero 1, UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila, 1976.

RAMÍREZ, H., y LOPEZ- BERNAL, E., Exploración sobre nueva alternativa de enraizamiento en manzano MM 106. Horticultura Mexicana 1: 70, 1985.

RAMOS MARTÍNEZ JOSÉ FERNANDO. 2002. El ácido cítrico en el crecimiento y desarrollo de plántulas de lechuga en invernadero. Tesis de licenciatura UAAAN.

RAY, P. M 1985. La planta viviente. Compañía Editorial Continental, S. A. México. Pp. 277.

ROTH, L. 1976. Anatomía de las plantas Superiores. Segunda Edición Universidad de Venezuela. Ediciones de la Biblioteca . Caracas Venezuela.

SALISBURI B. F., ROSS F. R 1992 Fisiología vegetal. Primera Edición en España. Editorial Iberoamericana, México .D.F. Pp. 80-83.

TRELEASE S. F. & TRELEASE H.M. 1933. Physiologically balanced culture solutions with stable hydrogen-ion concentration. Science 78, 438-439.

VAN OVERBEEK J., CONKLIN M.E. & BLAKESLEE A.F. 1941. Factors in coconut milk essential for growth and development of very young Datura embryos. Science 94, 350-351.

VAN OVERBEEK J., CONKLIN M.E. & BLAKESLEE A.F. 1942. Cultivation *in vitro* of small Datura embryos. Am. J. Bot. 29, 472-477.

WALWORTH J.L., CARLING D.E. & MICHAELSON G.J. 1992. Nitrogen sources and rates for direct-seeded and transplanted head lettuce. Hort Science 27(3), 228-230.

WESTWOOD, M. N., Temperate zone pomology, W. H. Freeman and Company, San Francisco, 1978.

WHITE M.C., DECKER A.M. & CHANEY R.L. 1981. Metal complexation in xylem fluid. I. Chemical composition of tomato and soybeans stem exudates. Plant physiology. 67, 292-300.