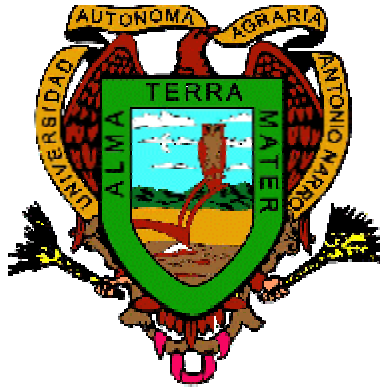


**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



**ESTUDIO ANATÓMICO DE TOMATE Y CHILE EN SOLUCIONES NUTRITIVAS
MODIFICADAS CON ÁCIDO CÍTRICO Y EN DISTINTOS AMBIENTES DE
RADIACIÓN**

Por : **JAQUELINA CRUZ ARMENTA**

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Título de :

Ingeniero Agrónomo en Horticultura

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Marzo de 2003.

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

**ESTUDIO ANATÓMICO DE TOMATE Y CHILE EN SOLUCIONES NUTRITIVAS
MODIFICADAS CON ÁCIDO CÍTRICO Y EN DISTINTOS AMBIENTES DE
RADIACIÓN**

**POR :
JAQUELINA CRUZ ARMENTA**

TESIS

**Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador
como requisito parcial para obtener el Título de:
Ingeniero Agrónomo en Horticultura**

**Dr. ADALBERTO BENAVIDES MENDOZA
ASESOR PRINCIPAL**

**M.C. FRANCISCA RAMIREZ GODINA
SINODAL**

**M.C. JOSE HERNANDEZ DÁVILA
SINODAL**

**M.C. ROSARIO QUEZADA MARTIN
ASESOR EXTERNO**

**Biol. LEOPOLDO ARCE GONZALEZ
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, Marzo de 2003.

INDICE DE CONTENIDO

	Página
INTRODUCCION	1
objetivos	2
REVISION DE LITERATURA	3
Cultivo de tomate	3
Importancia económica	3
Características botánicas y taxonómicas	4
Clasificación taxonómica	4
Cultivo de pimiento	5
Importancia económica	5
Características botánicas y taxonómicas	6
Clasificación taxonómica	6
Estomas	7
Densidad estomatica	7
Estructura de pecíolos	8
Estructura anatómica e Histológica de la planta	9
Cambium vascular	10
Sistema fundamental	12
Sistema vascular	12
Xilema	13
Floema	13
Factores que impactan sobre la actividad de los estomas y densidad estomatica	13
Luz	13
CO ₂	15
Efectos de la luz y las plantas	16
Salinidad	18
Los ácidos orgánicos	19
Uso de amortiguadores	20
Complejante de metales	20
Papel nutricional	20
MATERIALES Y METODOS	25
Localización del área experimental	25
Material utilizado	25
Diseño experimental	26
Establecimiento y descripción	27
Trabajo de microtoma	27
Procedimiento	28
Fijación	28
Deshidratación	28
Infiltración e inclusión	29
Corte de micrótopo	29

Fijación de los cortes en portaobjetos	30
Coloración	30
Sección de muestras para fotografías.....	32
Microfotografías	32
VARIABLES EVALUADAS	33
Densidad estomatica	33
Índice estomatico	33
Densidad celular Total Adaxial y Abaxial	33
Densidad de Células Tabloides Adaxial y Abaxial	33
Anatomía de pecíolos y pedúnculos	33
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
CONCLUSION	55
LITERATURA CITADA	57
APENDICE	61

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1.1	Células mm ⁻² en lado adaxial y abaxial de la hoja en diferentes colores de acolchado plástico del suelo ...	40
1.2	Estomas en el envés de la hoja nueva en pimiento con acolchado plástico negro	40
1.3	Índice estomático en lado adaxial y abaxial de la hoja en diferentes colores de acolchado plástico del suelo	41
1.4	Estomas en el haz de la hoja nueva en pimiento con acolchado plástico negro	42
1.6	Estomas en el envés de la hoja vieja en pimiento con acolchado plástico negro	43
1.7	Células mm ⁻² de células tabloides en lado adaxial y abaxial de la hoja en diferentes colores de acolchado plástico del suelo	43
1.8	Estomas en el haz de la hoja vieja en pimiento con acolchado plástico negro	44
1.9	Estomas en mm ⁻² en lado adaxial y abaxial de la hoja en diferentes colores de acolchado plástico del suelo	44
1.10	Estomas en mm ⁻² del testigo, AC 10 ⁻⁴ M, AC 10 ⁻² en lado adaxial y abaxial de la hoja	34
1.11	Estomas en el envés de la hoja del T2 de Tomate	34
1.12	Células en mm ⁻² de células tabloides del testigo, AC 10 ⁻⁴ M, AC 10 ⁻² en lado adaxial y abaxial de la hoja...	36

1.13	Estomas en el haz de la hoja del T2a de Tomate	36
1.14	Células en mm^{-2} del testigo, AC 10^{-4} M, AC 10^{-2} en lado adaxial y abaxial de la hoja	37
1.15	Estomas en el envés de la hoja del T2 de Tomate.....	38
1.16	Índice estomático del testigo, AC 10^{-4} M, AC 10^{-2} en lado adaxial y abaxial de la hoja	38
1.17	Estomas en el haz de la hoja del T2 de Tomate	39
2.1	Corte transversal (10x) de pecíolo de pimiento con diferentes colores de acolchado plástico; a) Negro, b) Trans, C) Gris, d) Azul, e) Rojo, f) café, g) Blanco...	50
2.2	Corte transversal (2.5x) de pecíolo de pimiento con diferentes colores de acolchado plástico; a) Negro, b) Trans, C) Gris, d) Azul, e) Rojo, f) café, g) Blanco...	51
2.3	Corte transversal (10x) de pedúnculo de pimiento con diferentes colores de acolchado plástico; a) Negro, b) Trans, C) Gris, d) Azul, e) Rojo, f) café, g) Blanco	52
2.4	Corte transversal (2.5x) de pedúnculo de pimiento con diferentes colores de acolchado plástico; a) Negro, b) Trans, C) Gris, d) Azul, e) Rojo, f) café, g) Blanco	53
2.5	Corte transversal (10x) de pecíolo de Tomate con diferentes aplicaciones de Ácido cítrico; a) T2 2500, b) T1 1000, c) T4 2500 $\text{cm } 10^{-4}$, d) T6 1000 $\text{cm } 10^{-4}$, e) T3 2500 $\text{cm } 10^{-2}$, f) T5 1000 $\text{cm } 10^{-2}$	46
2.6	Corte transversal (10x) de pecíolo de Tomate con diferentes aplicaciones de Ácido cítrico; a) T2 2500, b) T1 1000, c) T4 2500 $\text{cm } 10^{-4}$, d) T6 1000 $\text{cm } 10^{-4}$, e) T3 2500 $\text{cm } 10^{-2}$, f) T5 1000 $\text{cm } 10^{-2}$	47
2.7	Corte transversal (10x) de pecíolo de Tomate con diferentes aplicaciones de Ácido cítrico; a) T2 2500, b) T1 1000, c) T4 2500 $\text{cm } 10^{-4}$, d) T6 1000 $\text{cm } 10^{-4}$, e) T3 2500 $\text{cm } 10^{-2}$, f) T5 1000 $\text{cm } 10^{-2}$	48
2.8	Corte transversal (10x) de pecíolo de Tomate con diferentes aplicaciones de Ácido cítrico; a) T2 2500, b) T1 1000, c) T4 2500 $\text{cm } 10^{-4}$, d) T6 1000 $\text{cm } 10^{-4}$, e) T3 2500 $\text{cm } 10^{-2}$, f) T5 1000 $\text{cm } 10^{-2}$	49

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme vida y salud para poder llegar a la culminación de mis estudios profesionales.

A mi “ALMA MATER” y su personal docente por brindarme la oportunidad de formarme profesional y personalmente.

Al Dr. Adalberto Benavides Mendoza, por el apoyo y disposición para la realización de este trabajo de investigación.

A la M.C. Rosario Quezada Martin, por el apoyo que me brindo y por la revisión de este trabajo.

A la M.C. Francisca Ramírez Godina, por su apoyo y por la revisión de este trabajo de investigación.

Al M.C. José Hernández Dávila, por el apoyo que me brindo y por la revisión de este trabajo.

A la Laboratorista Lety Portos, por el apoyo que me brindo para la realización del trabajo en el laboratorio de citogenética.

Y a todos mis amigos y compañeros : Juliana, Lucy, Rosario G, Lety M, Conchis, Yessi, Alejandra, Zulma, Adriana, Vannesa G, Lilia, Kristy, Silvia, Anacleto, Beto, Wendy, Alvaro, Marquitos, Juan M, Paco, Narciso, Roberto, Isidro, Adán, Lalo, Diana, Ruth Vannesa, Itzel, Alicia, Sra. Rosy Méndez y a todas aquellas personas que me brindaron su amistad, comprensión y ayuda.

DEDICATORIAS

En especial a mis padres: Ana María Armenta Jiménez
Salvador Cruz García

Con todo respeto y admiración a ellos, por todo ese apoyo incondicional y por creer siempre en mi.

A mis Hermanos: Juan Antonio Cruz Armenta y Salvador, por ese apoyo moral y por ese amor tan grande que siempre ha existido entre nosotros.

A mis abuelitos: Amparo Jiménez
Guadalupe Armenta (†)

Por todo ese apoyo y cariño que siempre me brindaron cuando lo necesite.

Y a toda mi familia que me ha brindado la confianza, el cariño y el respeto, que me han dado apoyo moral para seguir adelante en todo lo que he logrado.

A mi novio Luis Humberto Ahumada Méndez., por todos estos años de amor y de felicidad, y por haber sido siempre el apoyo mas grande, por esos consejos, regaños, pero sobre todo por alentarme siempre a ser mejor. Siempre estarás en mi corazón.

DIOS LOS BENDIGA

RESUMEN

Con el objetivo de determinar la respuesta de la densidad e índice estomático abacial y adaxial en dos especies hortícolas (tomate y chile) sometidas a cambios en su entorno utilizando acolchado plástico de colores (Negro, Azul, Rojo, Transparente, Plata, Blanco, Café) y modificación de la solución nutritiva (0 , 1×10^{-2} , 1×10^{-4} M) y la conductividad eléctrica (1000 , 2500 mS/cm⁻¹) y en caracteres anatómicos vasculares de los pecíolos y pedúnculos (células parenquimatosas, xilema y floema) de plántulas de tomate Var. Río grande y pimiento Var. Capistrano. Se utilizó el diseño experimental completamente al azar con 6 tratamientos a evaluar y 10 repeticiones en tomate y 7 tratamientos a evaluar y 4 repeticiones para pimiento respectivamente. El experimento fue desarrollado en macetas de 20 litros rellenas con sustrato "Peat moss TBK" en el departamento de horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro para tomate y para pimiento se desarrolló en los terrenos del Centro de Investigación de Química Aplicada (CIQA). Se hizo un muestreo de impresiones foliares para sacar estomas en las dos especies hortícolas, en la etapa de rayado de fruto para tomate y en la etapa de producción para pimiento y para los caracteres anatómicos vasculares se hizo un muestreo de pecíolos de las hojas en tomate (Hoja más juvenil totalmente expandida) y pimiento de (Hoja más juvenil y vieja), y de pedúnculos de las dos especies hortícolas.

Se realizó un trabajo de microtoma, se hicieron cortes y análisis citológicos en el laboratorio de Citogenética ubicado en el Laboratorio de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Los resultados obtenidos en las variables evaluadas indicaron lo siguiente: Para el caso de la densidad e índice estomático, y aunque para pimiento mostró mayor número en adaxial y abaxial con los diferentes colores de acolchado plástico, el tratamiento mayor fue el acolchado azul para densidad e índice estomático, el tratamiento menor fue el acolchado plata, comparado con el testigo fue menor.

La modificación de la solución nutritiva y la conductividad eléctrica, para la densidad e índice estomático en tomate mostró mayor número en adaxial y abaxial con las diferentes concentraciones, el tratamiento mayor tanto en el lado adaxial y abaxial fue AC 10^{-2} M en 2500 mScm^{-1} C.E, el tratamiento menor es AC 10^{-4} M en 1000 mScm^{-1} C.E, comparado el testigo fueron mayor con la modificación de la solución nutritiva.

El xilema y floema de pecíolos y pedúnculos en tomate mostraron mayor número y tamaño con las diferentes concentraciones modificadas de la solución nutritiva y la conductividad eléctrica, el tratamiento mayor en pecíolos fue el T1 con 1000 mScm^{-1} C.E en número y tamaño de xilemas y floemas, respecto a pedúnculos fue mayor el T6 $1000 \text{ mScm}^{-1} + 10^{-4}$ M, el tratamiento menor fue en pedúnculos fue T5 con $1000 \text{ mScm}^{-1} + 10^{-2}$ M y pecíolos fue T4 con $2500 \text{ mScm}^{-1} + 10^{-2}$ M, comparado con el testigo fueron mayor con la modificación de la solución nutritiva

En cuanto al número y tamaño del xilema y floema de pecíolos y pedúnculos de pimiento mostraron una tendencia mayor con los diferentes colores del acolchado plástico, el tratamiento mayor en pecíolos fue con acolchado negro en número y tamaño de xilemas y floemas, respecto a pedúnculos fue mayor el acolchado azul, fue menor el acolchado transparente en pecíolos y pedúnculos el acolchado café comparados con el testigo solo hubo cambios en los pedúnculos.

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de tomate y chile son de suma importancia, por la superficie de 90,000 y 81,000 hectáreas (Valadez, 1996) destinadas para su cultivo a nivel nacional, el valor de su producción y el sinnúmero de productos que se obtienen de ellos, ocupando un papel preponderante en el desarrollo económico y social de la agricultura a nivel mundial.

En nuestro país en 1996-1997 se tuvo una producción de casi 2 millones de toneladas (Orozco, 1998) y un volumen de exportación en promedio de 9,652 millones de dólares en febrero de 1999. En suma son los principales cultivos generadores de divisas que proporcionan empleo a un gran numero de trabajadores del campo (Depto. de Comercio de los EUA, 1999).

Debido a la gran demanda de estos cultivos, es importante el conocimiento de cómo estas plantas se adaptan a los factores del entorno. La intercepción de la radiación fotosinteticamente activa por el dosel de las plantas en el campo ha recibido considerable atención durante muchos años, sin embargo, hasta hace poco tiempo la radiación fotomorfogénica fue reconocida como un regulador del reparto de fotosíntatos entre los diferentes órganos de la planta y como un factor importante en la adaptación, supervivencia y productividad de los vegetales en el campo.

El ácido cítrico es un compuesto orgánico que se caracteriza por ser anión de carácter ácido que quelata cationes metálicos cumpliendo así funciones clave en las estrategias que utilizan las plantas de manera natural excretándolos a la rizosfera de tal forma que se modifica la disponibilidad de metales como Fierro, Aluminio y otros tolerando así al estrés, coleccionar nutrientes del suelo, aclimatarse a la presencia de metales pesados, entre otros.

En particular la respuesta anatómica a sido poco estudiada. Este trabajo se realizó para generar información acerca de la respuesta de la anatomía epidérmica foliar y de los complejos vasculares de pecíolos y pedúnculos. Dicha información será integrada en un modelo actualmente en construcción que intenta agrupar este tipo de adaptaciones morfológicas en el conjunto de respuestas adaptativas llevadas a cabo por la planta en un entorno particular.

Considerando esta situación se marcaron los siguientes:

OBJETIVOS

1. Determinar la respuesta de la densidad e índice estomáticos abaxial y adaxial en dos especies hortícolas sometidas a cambios en su entorno utilizando acolchados plásticos de colores y modificación de la solución nutritiva y la conductividad eléctrica.
2. Estudiar los cambios en la anatomía vascular de los pecíolos y pedúnculos de la fruta bajo las condiciones descritas en el párrafo anterior.

II. REVISION DE LITERATURA

El cultivo de tomate

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es miembro de la familia de las Solanáceas (Solanaceae), y por lo tanto, pariente de la berenjena, del pimiento o chile, y del tabaco. En los trópicos el tomate es una herbacea perenne (habito de crecimiento indeterminado), pero en latitudes mas templadas se cultiva como planta anual (habito de crecimiento determinado); debido a lo anterior, la longitud de los tallos varia apreciablemente. Los frutos de tomate son soportados en racimos que portan usualmente de cuatro a ocho frutos. El fruto es una baya carnosa con muchas semillas pequeñas en su interior. (Valadez, 1996).

Importancia económica.

En México el tomate esta considerado como la segunda especie hortícola mas importante por la superficie sembrada y como la primera por su valor de producción. A esta hortaliza de fruto se le encuentra en los mercados durante todo el año y se consume tanto fresca como procesada (puré), siendo una fuente rica en vitaminas (Valadez, 1996).

En casi todos los medios comerciales se reconoce el alto valor y la rentabilidad de los productos hortícolas, por ejemplo, en los reportes anuales del Servicio Nacional de información de Mercados de 1995, se observa un incremento anual del siete por ciento en promedio entre el total de 28 productos hortícolas, que incluyen los de hojas, tallos, legumbres, frutos, bulbos y tubérculos. El tomate

ocupa el primer lugar con mas de 40 por ciento del total de las especies exportables. (Valadez, 1996).

Características Botánicas y Taxonómicas.

Es una planta anual en su cultivo y puede ser semiperenne en regiones tropicales. Su sistema de raíces es fibroso y robusto, pudiendo llegar hasta 1.8 m de profundidad. Los tallos son cilíndricos en las plantas jóvenes y angulosos en las plantas maduras ; alcanzan alturas de 0.40 a 2.0 m, presentado un crecimiento simpodico. El racimo floral o inflorescencia esta compuesto de vario ejes, cada una de los cuales tiene una flor de color amarillo brillante. El cáliz y la corola están compuestos de cinco sépalos y cinco pétalos, respectivamente (Valadez, 1996).

La inflorescencia se forma a partir del sexto o séptimo nudo, y cada 1 ó 2 hojas se encuentran las flores, en plantas de habito indeterminado se forman a partir del séptimo ó décimo nudo y cada cuatro hojas.

El fruto del tomate es una baya compuesta por varios lóculos, pudiendo constar desde dos (bilocular) hasta tres o más lóculos (multilocular) ; los cultivares comerciales pertenecen al tipo multilocular (Valadez, 1996).

Clasificación Taxonómica.

Familia : Solanaceae

Genero : *Lycopersicon*

Especie : *esculentum*

El cultivo de pimienta

El pimienta pertenece al orden *Solanaceales*. Dentro del cual hay comprendidas 30 familias siendo la *Solanácea* a la que corresponde el pimienta. De sus numerosas especies, más de la mitad pertenecen al género *Solanum*, repartiéndose el resto en unos 90 géneros, en los cuales dominan las hierbas y arbustos sin fallar los árboles y las lianas. Además del pimienta la familia de las solanáceas engloban un amplio grupo de plantas cultivadas de gran interés económico, como son la Papa (*Solanum tuberosum* L), el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), el tabaco (*Nicotiana tabacum* L), etc. (Valadez, 1996).

Importancia económica

En México, uno de los cultivos hortícolas mas importantes es el chile (*Capsicum annuum* L), por ser primordial en la dieta de los mexicanos, existe una gran diversidad o tipos de chiles. En 1978 se reportó un consumo per capita anual de 7.24 Kg. siendo aproximadamente el 75 % de chile fresco. (Valadez, 1996).

Actualmente se cultivan en el país alrededor de 80, 000 ha; de las cuales solo el 26 % se destina para consumirse como chile seco. El 75 % del área sembrada la ocupan los tipos: Guajillo, Jalapeño y serrano, correspondiendo alrededor de 15, 000 ha, de cada tipo (UACH, 1992). Requiere de gran cantidad de mano de obra generando empleos en zonas productoras, en algunos casos durante todo el año (alrededor de 120-150 jornales/ha).

Características Botánicas y Taxonómicas

El chile pertenece a la familia de las Solanáceas, la cual incluye otras plantas de importancia para el hombre como son : la Papa, tomate, jitomate, el tabaco. Según sus propiedades biológicas, el Chile es una planta perenne, pero se cultiva como si fuese anual.

Tiene una raíz, de sistema radicular pivotante y llegan a profundidades de 0.70 a 1.20 m, y lateralmente hasta 1.20 m, pero la mayoría de las raíces están a una profundidad de 5 a 40 cm (Guenko, 1983). Esta planta difícilmente forma raíces adventicias; cuando esto sucede se forman solamente del hipocótilo. El tallo es cilíndrico o prismático angular crece desde 30 hasta 120 cm de altura, según características de la variedad. Tiene tallos erectos, herbáceos y ramificados de color verde oscuro. Hojas son lampiñas, enteras, ovales o lanceoladas y miden de 12.5 a 7.5 cm de ancho, el ápice es muy profundo (acuminado) y un pecíolo largo o poco aparente. Flores son blancas o blancuzcas, se forman donde se ramifica el tallo, son hermafroditas de 6 pétalos, 6 sépalos, 6 estambres, ovario supero bi o trilocular es autógama.

Clasificación Taxonómica

Familia : Solanacea

Genero : *Capsicum*

Especie : *annuum*

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 subestomatica*, que continua con los espacios intercelulares del mesófilo.

En muchas plantas, dos ó más células adyacentes a las oclusivas parecen estar asociadas funcionalmente a ellas y se distinguen por su morfología de otras células epidérmicas, se les llama *Células anexas o adjuntas*. Las células oclusivas son generalmente de forma arriñonada vistas de frente y engrosamiento de la membrana en los bordes superior e inferior.

Los estomas son muy frecuentes en las partes verdes aéreas de las plantas, particularmente en las hojas (Esau, 1972).

Densidad estomatica

La frecuencia o densidad estomatica, que es el número de estomas por unidad de área (mm^2), presenta una 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).

Estructura de pecíolos

Existen semejanzas entre los tejidos del pecíolo y los del tallo. La epidermis del pecíolo es continua con la del tallo. Las células parénquimáticas del pecíolo, como las del cortex contienen pocos cloroplastos, sobre todo comparadas con las de la lámina foliar. Los tejidos de sostén del pecíolo pueden ser colaterales, bilaterales ó concéntricos. El floema esta acompañado, en muchas especies, por grupos de fibras. La disposición de los tejidos vasculares en el pecíolo difiere en las distintas plantas. Pueden aparecer en sección trasversal, en forma de media luna interrumpida , continúa ó como un anillo completo ó interrumpido ó como un anillo con haces adicionales, externos e internos. Una disposición de los haces dispersos se ve en muchas monocotiledóneas. (Esau, 1972).

Si existe un solo haz colateral en el pecíolo, el floema se encuentra en la cara abaxial y si los haces se disponen en un anillo, el floema es externo y el xilema en la periferia del anillo. En algunas plantas, los pecíolos o los peciolulos tienen expansiones como cojinetes llamados *Pulvinulos* . estos son capaces de dar movimiento a las hojas o foliolos, este contiene una gran cantidad de parénquima y su superficie esta normalmente arrugada; los movimientos de apertura y cierre en los factores ambientales, además se realizan por cambios de turgencia en las células motoras de los pulvinulos (Fahn, 1974)

Estructura Anatómica e Histológica de la planta

En la planta el tallo, pecíolo y el pedúnculo, tienen una gran importancia para la planta, ya que son indispensables para la traslocación de nutrientes, agua, fotosintatos y otros compuestos químicos que requiere la planta para su crecimiento y desarrollo; así como otras funciones importantes como la de dar sostén a la estructura aérea de la planta, como son las hojas, flores y frutos; entre otras de las funciones que son indispensables para la vida de las plantas. Pues si bien estas estructuras son importantes para la planta, no hay suficiente información que describa detalladamente la anatomía de cada una de ellas; por otro lado se sabe que la estructura anatómica del tallo, pecíolo y pedúnculo es parecida en forma cualitativa, es por ello que describiremos en la siguiente revisión, la constitución anatómica, basándose en el tallo. (Esau, 1972).

El tallo tiene una estructura en la cual debajo de la epidermis se encuentra el cortex o corteza cuyas células externas tienen clorofila y son fotosintéticas, mientras las mas internas son de tipo colenquimático y ayudan a soportar el tallo. La capa cortical mas interna es la endodermis, que separa el cortex del cilindro vascular. (Esau, 1972).

Toda la estructura vascular y las células parénquimáticas que lo rodean, y el periciclo se disponen en forma de tubo alrededor de un tejido medular. Existen capas de floema tanto interiores como exteriores a un tubo cilíndrico de fibras de

xilema. A medida que se desarrolla el floema secundario, el floema externo forma un cilindro mas continuo. La importancia del xilema secundario depende de las condiciones del cultivo y esta relativamente mas desarrollado en los tallos delgados de crecimiento lento, donde las células medulares son mayores. En el extremo del tallo principal se encuentra el meristemo apical, una región de división celular activa donde inician los nuevos primordios foliares y florales. Tiene forma de cúpula y esta protegido por las hojas recién formadas (Picken *et al.*, 1986).

Cambium Vascular

Este meristemo se encuentra entre el xilema y el floema primario de la raíz y del tallo y rara vez en pecíolos y yemas foliares que presentan crecimiento en grosor. En los tallos, los tejidos vasculares están generalmente en haces (llamados también fascículos), o sea cordones que corren longitudinalmente el tallo; cada fascículo esta constituido por xilema y floema, quedando orientados el primero hacia el centro del tallo y el segundo hacia la periferia. El cambium vascular situado entre el xilema y el floema de un haz o fascículo, se denomina cambium fascicular. Los haces vasculares están separados entre si, por los radios medulares o zonas interfasciculares formados por tejido parenquimatoso; el parénquima localizado al nivel del cambium fascicular sufre una diferenciación, adquiriendo la facultad de dividirse, transformándose en un meristemo, al que se le llama cambium interfascicular. El cambium fascicular e interfascicular, forman un cilindro continuo llamado cambium vascular (Esau, 1972).

Las células del cambium vascular se dividen tangencialmente por lo que producen células hacia dentro, que se diferenciarán en xilema secundario y hacia fuera que se transformarán en floema secundario. El cambium vascular tiene una mayor producción hacia adentro; por lo tanto habrá una mayor producción de xilema (Esau, 1972).

Por ser tangenciales las divisiones de las células del cambium vascular forman filas radiales de células, tanto el xilema, como en el floema secundarios. En el cambium vascular se pueden distinguir dos tipos de células: Células Fusiformes. Son células alargadas, terminadas en punta y dan origen al sistema vertical de los tejidos vasculares secundarios. Las células radiales, son células pequeñas e isométricas, y darán origen al sistema horizontal de los tejidos vasculares secundarios (Esau, 1972).

En las plantas de clima tropical, la actividad del cambium vascular es más o menos constante. Sin embargo en las plantas de climas con estaciones marcadas, la actividad del cambium cesa cuando las condiciones del medio son desfavorables (baja temperatura), pasando por el periodo de reposo y la actividad del cambium se reanuda al volver las condiciones propicias (aumento de la temperatura); por lo tanto, durante la primavera el cambium vascular inicia su actividad, la cual cesa en el otoño, por lo que las plantas en estaciones marcadas se puede observar el crecimiento en grosor de un órgano que se ha efectuado durante un año de vida de la planta; este aumento se logra ver solamente en el

xilema secundario por la producción de un anillo anual de crecimiento, en el floema no hay producción de estos anillos. Se ha observado que el inicio de esta actividad del cambium vascular en la primavera, está relacionado con las yemas jóvenes del tallo, ya que en ellas se producen hormonas de crecimiento que también activan al cambium vascular; el cambium vascular cercano a las yemas jóvenes inicia su actividad más tempranamente que el cambium alejado de estas yemas (Esau, 1972).

Sistema Fundamental

Se incluyen los tejidos de relleno y algunos de sostén de una planta. Los tejidos de relleno pueden efectuar diferentes funciones como fotosíntesis, reserva de alimentos y de agua; los tejidos de sostén dan resistencia con flexibilidad a la planta. En este sistema se agrupan: Parénquima, colénquima, esclerénquima (Esau, 1953).

Sistema Vascular

En este sistema se incluye a los tejidos conductores de la planta que son el xilema y floema. El origen de estos tejidos pueden ser primarios y secundarios. El xilema y floema primarios son típicos de las monocotiledóneas o de las primeras fases de desarrollo de los órganos con crecimiento secundario, (raíz y tallo de gimnospermas y dicotiledóneas) su origen es a partir del procambium vascular y en los órganos con crecimiento secundario. La localización del xilema y floema primario varía dependiendo del órgano de que se trate, así como a la categoría taxonómica a la que pertenezca la planta (Esau, 1972)

Xilema. El xilema es el principal tejido conductor de agua y sirve también como tejido de sostén. La conducción de agua es en dirección acropeta. El xilema es un tejido complejo constituido por varios tipos de células : elementos traqueales, fibras y parénquima (Esau, 1972).

Floema. El floema es el principal tejido conductor de material alimenticio, efectuándose la conducción en direcciones basipeta o acropeta. Al igual que el xilema, el floema es un tejido complejo constituido por diferentes elementos, sin embargo con el floema no tiene gran valor comercial (a excepción de las fibras comerciales), son menos detallados los estudios hechos sobre los elementos del floema. El floema consta de elementos cribosos, células acompañantes, fibras, esclereidas y células parenquimatosas (Esau, 1972).

Factores que impactan sobre la actividad de los estomas y densidad estomatica

Luz

La irradiancia y la calidad espectral son determinantes en las características de la epidermis foliar. Allard *et al.* (1991a) encontraron que la densidad estomatica total fue menor en un 17-24 % en plantas sometidas a baja irradiancia ($600 \mu\text{mol m}^2.\text{s}^{-1}$ de PPFD), encontrando además una reducción mayor en la superficie abaxial que en la adaxial. Lo mismo fue observado por Woledge (1971) quien

además reportó la ausencia de diferencias en la forma de las células guarda entre hojas desarrolladas en condiciones de alta y baja irradiancia.

Para el caso de los pastos la división celular en la epidermis y la formación de estomas ocurre principalmente en los 2 mm basales de la lámina foliar ; este proceso se presenta varios días antes de que termine la división celular en el mesofilo y el tejido foliar sea expuesto totalmente al medio ambiente (MacAdam *et al.*, 1989). Este punto es importante ya que, al igual que en la dicotiledóneas (Borthwick y Parker, 1940), la determinación de ciertas capacidades de la planta entera o de alguno de los órganos es realizada muy tempranamente durante la otongenia (Allard *et al.*, 1991 a). Aparentemente este proceso se encuentra regulado por las señales del ambiente lumínico percibidas por el propio órgano en desarrollo y por los órganos mas viejos ya presentes (Zinsou y Schoch, 1979).

La anatomía foliar es importante en la determinación de los trayectos de los rayos luminosos y de la reflexión interna en los tejidos. Allard *et al.* (1991 a) encontraron un incremento de 25 % en la cantidad de espacio aéreos en el mesofilo de plantas (*Festuca arundinacea* Schreb) desarrollados en condiciones de baja irradiancia en comparación con plantas desarrolladas en alta irradiancia.

Se sabe que el balance espectral R :FR modifica la anatomía y morfología foliar. Kasperbauer y Hamilton (1984) encontraron que los cloroplastos de plantas sometidas a balance R :FR bajo presentaron mayor cantidad de grana que los de plantas bajo la condición inversa.

Dióxido de carbono (CO₂)

Se sabe por ejemplo que para un mismo genotipo la frecuencia estomatica puede ser menor en presencia de acolchado plástico (Piña, 1994) o al aumentar la concentración de CO₂ en la atmósfera de crecimiento de plantas C₃ (Woodward, 1987), aunque en algunos trabajos como el de Radoglou y Jarvis (1992) y el de Ryle y Stanley (1992) no se observaron respuestas en esta característica frente al enriquecimiento con CO₂. Incluso en el estudio de Ramonell *et al.* (1997) se afirma que el enriquecimiento con CO₂ tiene un efecto positivo sobre la densidad estomatica. En este ultimo caso los autores trabajaron con un nivel muy bajo de densidad de flujo fotonico ($200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{S}^{-1}$) lo cual obviamente cambia todo el esquema de la respuesta. La presencia de dichas inconsistencias es difícil de explicar, excepto por el hecho de que las respuestas morfológicas son muy dependientes de otras condiciones ambientales y son por lo general particulares para cada especie y variedad.

En realidad es poco lo que se sabe acerca de la regulación de los programas de desarrollo que generan los patrones de densidad y distribución estomatica en respuesta a las variables ambientales. Se tienen avances utilizando mutantes de *Arabidopsis* con frecuencia, distribución y agrupamiento estomatico atípicos que dan luz acerca de como se generan los patrones de distribución estomatica (Berger *et al.*, 1997). En este sentido son interesantes los resultados de Ramonell *et al.* (1997) quienes encontraron que factores que favorecen la actividad fotosintética (alto CO₂ ó Bajo O₂) dan lugar a cambios fenotípicos

similares en las hojas, encontrándose entre dichos cambios la modificación de la frecuencia estomatica. Es decir, los autores no encontraron un fenotipo especializado para alta concentración de CO₂ o para déficit de O₂, la respuesta fenotípica parece ser la misma.

Aparentemente se tiene un patrón general de desarrollo foliar dependiente del estado de oxido-reducción (redox) de los tejidos, ya que se sabe que tanto el O₂ como el CO₂ impactan el nivel de oxidación de los tejidos foliares. Un resultado también interesante, considerando la relación fotosíntesis-densidad estomatica, es el de Weng y Chen (1998) quienes descubrieron que los genotipos de arroz con alta capacidad fotosintética mostraban la expresión de una banda particular de una estereasa, dicha estereasa a su vez se encontró al parecer ligada con un gene que expresaba alta densidad estomatica.

Efectos de la luz y las plantas

Se ha dicho que, después del agua, la luz es el principal factor que regula la vida de las plantas. La luz es esencial para el crecimiento normal de una planta, porque esta provee energía para fotosíntesis y muchas de las señales ambientales que regulan el desarrollo de las plantas (Thompson y White, 1991). Las señales de luz son también empleadas a través del ciclo de vida para sincronizar el desarrollo, permitir reacciones apropiadas a la competencia e iniciar ventaja oportuna a las perturbaciones ambientales. Los procesos ecológicamente significativos, en los que hay respuesta o control por señalización de luz incluyen germinación de semillas, etiolación, deetiolación y establecimiento de plántulas,

percepción de proximidad y evitación de sombra, aclimatación fotosintética a sombra vegetativa y alta irradiancia, respuestas trópicas, desarrollo de cloroplastos, crecimiento de tallos, pigmentación, apertura estomática, inducción a floración y tasa de floración, senescencia, inducción de dormancia de yemas y tuberización (Smith, 1995; Adrados *et al.*, citados por Flores, 1996).

Dado que las plantas dependen de la luz como fuente primaria de energía, han desarrollado un sin fin de mecanismos para medir la intensidad luminosa (fluencia ó densidad de flujo) dirección, duración (fotoperiodicidad) y calidad (balance espectral), los cuales son componentes básicos del entorno lumínico de la vegetación. El hecho de que las plantas sobrevivan y prosperen aun en habitats donde la radiación ambiental parece ser distintivamente favorable, indica que la evolución ha proveído esos sofisticados mecanismos de sensibilidad. Las plantas usan tal información, en un proceso comúnmente referido como fotomorfogenesis, para capturar luz mas eficientemente y adaptar su ciclo de vida a fluctuaciones climáticas (Smith, 1982; Benavides *et al.*, 1993; Viertstra, 1993).

Fotomorfogenesis significa el desarrollo normal, la aparición del color verde característico por la presencia de clorofila y pigmentos accesorios en los cloroplastos, aparición de hojas, tallos y raíz, en cierto periodo, las estructuras reproductivas (Benavides *et al.*, 1993).

La intercepción de radiación fotosinteticamente activa por el dosel de plantas en el campo ha recibido considerable atención durante muchos años; sin embargo, hasta hace poco tiempo la radiación fotomorfogenica fue reconocida como un regulador del reparto de fotosintatos entre los diferentes órganos de la

planta y como un factor importante en la adaptación, supervivencia y productividad de los vegetales en el campo (Kasperbauer y Hunt, 1992). Al respecto, Bradburner *et al.* (1989), señalan que se puede manipular la radiación incidente de una manera sencilla para guiar las respuestas o expresión del programa genético potencial de las plantas, hacia donde se desea, de acuerdo a objetivos particulares; pero que es necesario proporcionar un manejo adecuado al cultivo (control hídrico y de plagas y enfermedades, nutrición mineral y carbónica, etc.; de lo contrario no habrá respuesta al ambiente lumínico y se podrá presentar un estrés particular o varios de ellos.

Salinidad

Los habitats salinos se definen por la presencia de un contenido anormalmente altos de sales solubles. Los lagos y estanques salinos así como los océanos son ambientes acuáticos salinos; en tierra se presentan suelos salinos en regiones áridas y húmedas. En las regiones húmedas el suelo puede volverse salino al exponerse a los aerosoles marinos(que pueden llegar hasta 100 Km tierra adentro).

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 proteínas del citoplasma y las membranas. El agua es retenida osmoticamente en la soluciones salinas de tal forma que conforme aumenta la concentración de sal el agua se encuentra cada vez menos disponible en la planta.

Además de los efectos osmóticos la salinidad impone toxicidad sobre las células. El efecto tóxico de los medios salinos se refiere a competencia de un ión

en particular por el sitio del cofactor proteico (Bernstein *et al.*, 1974) o bien la ocurrencia de cambios conformacionales en las proteínas.

Como fue mencionado, el efecto general de la salinidad es el reducir la tasa de crecimiento resultando ello en hojas mas pequeñas, altura y en ocasiones en menor cantidad de hojas. Las raíces también disminuyen su longitud y biomasa aunque pueden ser mas delgadas o mas gruesas. Igualmente la tasa de maduración puede ser mayor o menor dependiendo de la especie. El grado en el cual el crecimiento es disminuido difiere grandemente entre especies y, en menor extensión, entre cultivares o variedades dentro de la especie. La severidad de la respuesta a la salinidad depende de la interacción con otras variables ambientales como la humedad, temperatura y radiación. El efecto osmótica de la salinidad contribuye principalmente a obtener una baja tasa de crecimiento, mientras que los efectos de toxicidad iónica modifican el color de las hojas, la tasa de madurez y el cociente entre la biomasa aérea y la biomasa de la raíz.

Los ácidos orgánicos

Según Edwin (1993) pueden cumplir las siguientes funciones.

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

- Actuar como agentes quelatantes, mejorando la disponibilidad de algunos micronutrientes.
- 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 estabilizan 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. Ojima 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 su crecimiento, pudieron haber quelatado el hierro no disponible, para corregir una deficiencia de hierro.

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 (1969), mostraron que el jugo de naranja, adherido al 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 Glutamic dehydrogenase (por sus siglas en ingles: GDH), 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, manganeso 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 (Vancura y Hovadik, 1985; Riveire, 1960; Tiffin, 1966). Se ha postulado que las plantas varían en la susceptibilidad a las deficiencias de micronutrientes debido a las 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 micronutrientes 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

(www.drcalderonlabs.com/Publicaciones/Cartilla_Quelatos.pdf).

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 radiculares 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). 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 Polyfosfatos 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.

Rodríguez (2002) reportó que la aplicación de ácido cítrico, en la solución nutritiva, a plantas de manzano a concentraciones de 10^{-4} M y 10^{-3} M incrementaron las cantidades de algunos elementos como Ca, Fe, Mn, K y Mg.

Al-Bahrany y Al-Shabaaan, (1995), reportan el efecto del ácido cítrico y oxálico (aplicados al suelo calcáreo) en la absorción por la planta de fosfatos y de otros elementos, aplicadas en tomate (*Lycopersicum esculentum*), donde el efecto de diferentes concentraciones (5, 10, 15 mM) de los ácidos cítrico y oxálico (0, 1); estos disminuyeron la absorción de P por la planta y por lo tanto la altura respectivamente. Siendo el ácido cítrico el que causó mayor disminución. El efecto sobre otros elementos fue variable, incrementando la absorción de Fe y Zn en ambos ácidos, también hubo un efecto en la absorción de Cu pero en menor importancia, en cuanto al Mn se presentó una disminución de su absorción con cantidades del ácido cítrico. Cabe mencionar que ambos ácidos orgánicos aumentaron generalmente la absorción del Ca, Mg y K.

Por su parte Ramos 2002, reportó el efecto de diferentes concentraciones de ácido cítrico (0.1×10^{-5} , 1×10^{-4} y 1×10^{-3} M) en plántulas de lechuga sobre el peso fresco y peso seco en vástago y raíz, adherido a la cama flotante en el cual crecieron las plántulas. Encontrando que el ácido cítrico a concentración 1×10^{-3} incrementó el peso fresco y peso seco de raíz y vástago.

III. MATERIALES Y METODOS

Localización del Área Experimental

El trabajo experimental se realizó en dos partes, la primera se hizo en el Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” situado al sur de la ciudad de Saltillo, Coahuila, México, durante primavera y verano del 2002, cuyas coordenadas geográficas son: 25° 22' Latitud Norte, 101° 00' Longitud Oeste, con una altitud de 1743 msnm. La segunda se realizó en la ciudad de Saltillo, Coahuila, en el Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), el cual se encuentra situado al noreste de la ciudad, a 25° de latitud Norte y 101° 02' de longitud oeste y a una altura de 1690 msnm.

Material utilizado

Material vegetativo

Se emplearon semillas de tomate (*Lycopersicum esculentum* L.) de la variedad “Río Grande” producida por la empresa de semillas Petoseed. En el caso del pimiento (*Capsicum annum*), se utilizaron semillas de la variedad Capistrano producida por la empresa de semillas Petoseed

Material utilizado

El experimento fue desarrollado en macetas de 20 litros rellenas con sustrato “peat moss TBK” para las plantas evaluadas y se utilizaron bolsas de polietileno para las plantas que sirvieron para eliminar el efecto orilla, las cuales fueron rellenas con el mismo material

Diseño Experimental

Para tomate el diseño experimental fue un completamente al azar, seis tratamientos y 10 repeticiones (Total de 120 macetas).

Los tratamientos fueron:

T1 : 1000 mS/cm⁻¹

T2 : 2500 mS/cm⁻¹

T3 : 2500 mS/cm⁻¹ + 1x10⁻² Mol de Acido Citrico

T4 : 2500 mS/cm⁻¹ + 1x10⁻⁴ Mol de Acido Citrico

T5 : 1000 mS/cm⁻¹ + 1x10⁻² Mol de Acido Citrico

T6 : 1000 mS/cm⁻¹ + 1x10⁻⁴ Mol de Acido Citrico

Para pimiento se utilizó el mismo diseño experimental, pero con siete tratamientos y cuatro repeticiones.

Los tratamientos fueron:

T1: Acolchado negro

T2: Acolchado transparente

T3: Acolchado plata

T4: Acolchado azul

T5: Acolchado rojo

T6: Acolchado café

T7: Acolchado blanco

Establecimiento y Descripción

Para tomate se hizo durante la etapa de rayado de frutos se tomaron 2 plantas al azar por tratamiento totalizando una muestra de 25 plantas. En cada planta se tomaron impresiones foliares en el haz y en el envés de la hoja mas juvenil totalmente expandida (hojas con orientación al oriente) utilizando la técnica de poliestireno-xilol (R. K. Maití, comunicación personal). Para ello, en una caja petri se disolvió poliestireno en una pequeña cantidad de xilol hasta alcanzar la consistencia de aceite para cocinar. El poliestireno en forma líquida se aplica sobre la superficie foliar y se deja secar. La muestra es extraída con un trozo de cinta adhesiva transparente la cual se adhiere posteriormente sobre un portaobjetos de vidrio el cual se observa al microscopio. En cada impresión foliar se realizaron conteos de estomas y células tabloides en 3 campos del microscopio elegidos al azar.

Para pimiento se hizo el mismo procedimiento para tomar las impresiones foliares, pero aquí se tomaron 2 hojas una de la parte alta y otra de la parte baja de la planta y se tomaron en la época de producción.

Trabajo de Microtomía

Los cortes y análisis histológicos se realizaron en el Laboratorio de Citogenética ubicado en el Departamento de Fitomejoramiento de la UAAAN ; los principales materiales utilizados fueron : un micrótopo de mano “820” Spencer, American Optical, microscopio compuesto Carl Zeiss de fotografía, estufa GCA Precisión Scientific THELCO modelo 18, para control de temperatura.

Procedimiento

Para el trabajo de microtoma se realizaron cortes transversales de pecíolos (para el caso de tomate fue la hoja mas juvenil totalmente expandida con orientación al oriente, y para pimiento fue la misma hoja que en tomate y una hoja de la parte baja de la planta), pedúnculos del fruto de las plantas establecidas a un lado del invernadero, cuando estas tenían frutos casi en su madurez final aproximadamente.

Fijación

El efecto del fijador es conservar los tejidos con un mínimo de alteraciones, se utilizaron frascos de 250 ml que contenían el fijador FAA (ácido acético glacial 5 cc, alcohol al 70 %, 90 cc, formaldehído 36.40 %, 5 cc). Las muestras se colocaron en el fijador inmediatamente después de su colecta en el sitio experimental, se clasificaron por tratamiento, y del órgano de la planta de donde se obtuvo; se conservaron a temperatura ambiente hasta que se inició el trabajo de laboratorio.

Deshidratación

Consiste en quitar el agua de los tejidos fijados y endurecidos. El procedimiento consistió en pasar los cortes por diferentes soluciones deshidratantes, de mayor a menor concentración, la soluciones fueron de alcohol

etílico, al 50 %, 60 %, 70%, 85%, 96 % más eosina, alcohol 96°, siguiendo con alcohol etílico absoluto I, alcohol absoluto II, alcohol absoluto más xilol a diferentes proporciones (3:1, 1:1, 1:3) ; esto se realizó con intervalos de dos horas.

Infiltración e Inclusión

Los cortes se colocaron en frascos con xilol puro, se agregó parafina y se metieron en la estufa a 35°C por 24 horas, después de este tiempo se les agregó más parafina y se elevó la temperatura de la estufa a 45°C, después de esto se hizo el cambio a parafina pura, luego la temperatura se elevó a 55°C por 24 horas ; el último paso de la infiltración e agregó más parafina y se elevó la temperatura a 60°C por 24 horas.

Se utilizaron vasitos desechables como moldes, se vació parafina en estos y con la ayuda de una aguja de disección se extrajeron los cortes de los frascos y se colocaron uno sobre otro en los moldes, se colocó un solo tipo de corte por vasito (en uno un pecíolo, en otro el pedúnculo) ; cuando la parafina estaba casi sólida se colocaron las etiquetas hechas de cartoncillo especificando el tratamiento y el tipo de corte, y se dejaron a temperatura ambiente a solidificar.

Corte de Micrótomos

Posteriormente se montó el pedazo con la muestra sobre la platina del micrótomos, calentando ésta para que se pegara perfectamente ; luego que la

parafina se fijó se le quitó nuevamente la parafina sobrante. Posteriormente se colocó el bloque en el micrótomó y se niveló y se orientó hacia la cuchilla previamente limpia. El micrótomó se graduó a 10 micras y dando vuelta a la manivela se obtenía una tira larga de parafina con los cortes transversales.

Fijación de los Cortes en Portaobjetos

Sobre un Portaobjetos limpio se untó uniformemente adhesivo de Haupt (1 g de gelatina, 15 cc de glicerina, 2 g de metabisulfito de sodio por cada 100 cc de agua destilada). Con un gotero se aplicó una gota de formalina y se colocó encima una tira de parafina con 4 ó 5 cortes de muestra dependiendo del tamaño del tejido, enseguida se retiró el exceso de adhesivo con un trapo limpio luego se calentó suavemente la preparación pasándola sobre la flama de un mechero de alcohol, esto con el objeto de que los cortes se extendieran y se fijaran bien al portaobjetos, esto se realizó con mucho cuidado para evitar que la parafina se derritiera y el tejido se deshiciera. Las preparaciones duraron una semana para que quedaran bien fijadas, enseguida se les puso la identificación con un plumón en un extremo del portaobjetos.

Coloración

Se prepararon una serie de reactivos, en frascos Coplin con una capacidad para ocho portaobjetos cada uno. Se colocaron las preparaciones de manera que el tejido quedara hacia la derecha, esto para identificar la muestra ya que al

meterla al alcohol y al estar todas orientadas al mismo lado al momento de agarrarlas con las pinzas, no se maltrata al tejido de la preparación siguiente.

Con las pinzas, las preparaciones se pasaron por los primeros tres frascos que contenían xilol puro I, xilol puro II, xilol puro III (que se utilizan para quitar la parafina) por un tiempo de 10 minutos en cada uno ; posteriormente se cambiaron a frascos con alcohol etílico absoluto a 96 %, 85 %, 70 %, 60 % y 50 % por 5 minutos en cada frasco, después de enjuagarlas en agua destiladas, se pasan a una solución de safranina (1 g de safranina en 100 cc de agua destilada), donde duran un tiempo mínimo de 3 horas y máximo de 24 horas; lo siguiente fue pasarlas unos cuantos segundos por una serie de enjuagues, agua normal, agua destilada, alcohol etílico al 50 %, alcohol etílico 60 %, alcohol etílico 70 %, alcohol etílico 85 %, alcohol etílico 96 %. Posteriormente las preparaciones se pasaron a una solución colorante verde rápido (0.5 verde rápido en 100 cc de alcohol 96°) por un tiempo de 5 segundos, se pasaron a los enjuagues de alcohol etílico 96°, alcohol absoluto I, alcohol absoluto II, y se pasaron a xilol puro I, xilol puro II, xilol puro III por 10 minutos en cada uno de los frascos (para completar el proceso de deshidratación). Después de sacar las muestras del ultimo frasco se escurrieron y se llevo acabo el proceso del montaje colocándole a las preparaciones unas gotas de bálsamo de Canadá como pegamento, tratando de poner las gotas enmarcando los cortes y colocándoles el cubreobjetos; se quitaron los excesos de

pegamento con una toalla de papel, se dejaron secando en las gradillas por una semana aproximadamente.

Selección de Muestras para Fotografía

Ya que las preparaciones estuvieron montadas y secas, se observaron en el microscopio para seleccionar las preparaciones que se deseaba microfotografiar, para esto se observó que no estuvieran rotos los tejidos, ni los bordes doblados o dañados en exceso, que no estuvieran sobre coloreados y que pudieran observar los tejidos de interés, una vez seleccionadas se marcaron y se llevaron al proceso siguiente.

Microfotografía

A los tejidos seleccionados se les tomó microfotografías a dos aumentos, 2.5x y 10x, y se imprimieron en papel fotográfico F-3 blanco y negro en el cuarto oscuro. Y por ultimo se realizaron las comparaciones de las fotografías.

Variables evaluadas

Densidad estomatica adaxial y abaxial

Para esta variable se hizo un conteo de número de estomas por unidad de área (mm²), para calcular el total de la densidad se empleo la siguiente formula:

$$\text{Densidad estomatica} = \frac{\text{No. de estomas}}{\text{Unidad de área (mm}^2\text{)}}$$

Índice estomatico

Para esta variable también se realizó un conteo de estomas y células tabloides colocando las laminillas en un microscopio compuesto, el cual para calcular el total se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Índice estomático} = \frac{\text{No. de estomas}}{\text{No. de células tabloides}}$$

Densidad Celular Total adaxial y abaxial

Es el numero de células epidérmicas estomaticas y no estomaticas por unidad de área en la hoja.

Densidad de Células Tabloides adaxial y abaxial

Es el numero de células epidérmicas no oclusivas por unidad de área en lado adaxial y abaxial.

Anatomía de pecíolos y pedúnculos

Es el análisis y comparación cualitativa de la estructura microscópica de los tejidos.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Características Epidérmicas

4.1.1 Tomate

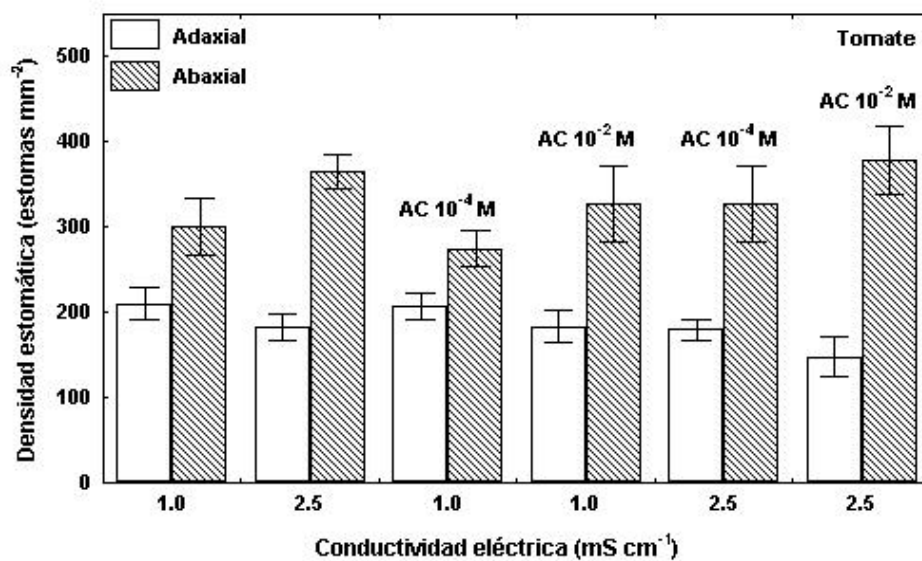


Fig. 1.10 Estomas por mm² del testigo, AC 10⁻⁴ M, AC 10⁻² en lado adaxial y abaxial de la hoja .

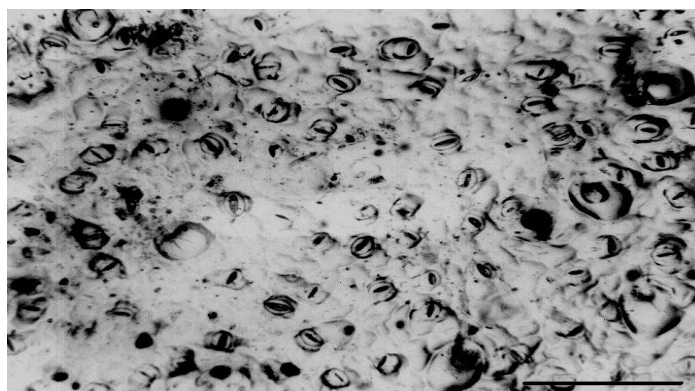


Fig. 1. 11 Estomas en el envés de la hoja del T2 de Tomate.

Densidad estomática

Para esta variable, (Cuadro 6A) se observa que la densidad estomática en el tratamiento testigo se noto la diferencia en el lado abaxial en los dos rangos de conductividad, pero menor en el lado adaxial. (Figura 1.10), pero se observa que es mayor con la aplicación de ácido cítrico en el lado abaxial en todos los rangos de conductividad eléctrica, pero menor en el lado adaxial en todos los tratamientos. Es importante hacer notar sin embargo que el tratamiento T3 $2500 \text{ mScm}^{-1} + 1 \times 10^{-2}$. el comportamiento es diferente que en los demas, ya que en el lado adaxial y abaxial casi no hay variación, mientras que en los demas tratamientos en el lado adaxial la densidad es considerablemente menor que en el abaxial.

Se sabe que la densidad estomática y el índice estomático son regulados por factores endógenos y ambientales. Entre los factores ambientales reportados se encuentra la concentración de CO_2 que presenta una relación positiva con el índice estomático pero en ausencia de relación con la densidad estomática en *Tradescantia* (Boestch *et al*, 1996). Del mismo modo la respuesta de disminución en la densidad estomatica se reporto como un carácter de aclimatación para restringir la perdida de agua en un gradiente de altitud (Schoetle y Rochelle, 2000).

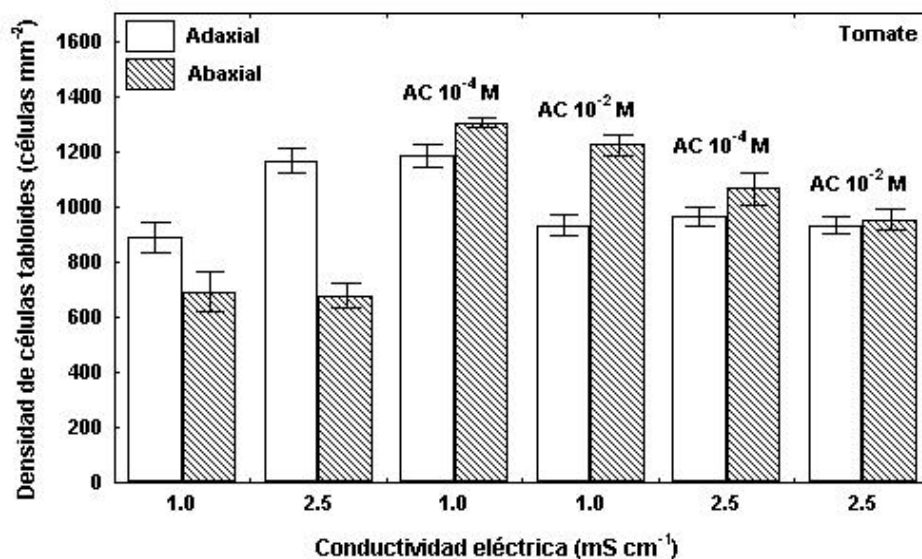


Fig. 1.12 Células tabloides en mm² del testigo, AC 10⁻⁴ M, AC 10⁻² en lado adaxial y abaxial de la hoja .

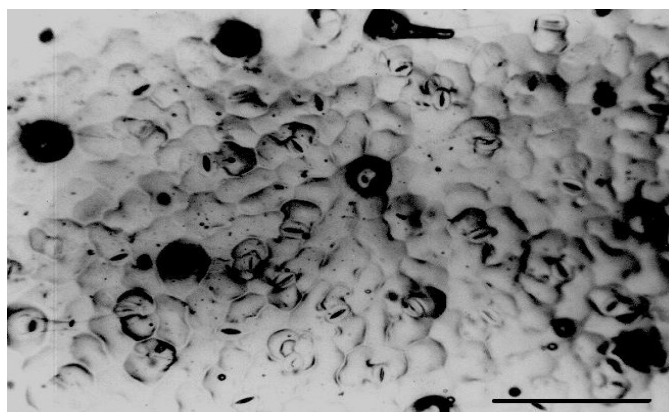


Fig. 1. 13 Estomas en el haz de la hoja del T2a de Tomate.

Densidad células tabloides

En lo referente a esta variable (Cuadro 6A), la densidad de células tabloides en el testigo hubo mayor número de células tabloides en el lado adaxial en los dos rangos de conductividad eléctrica, pero menor en el lado abaxial. (Figura 1.12), para el caso de las aplicaciones de ácido cítrico en los diferentes rangos de

conductividad eléctrica es menor con la aplicación de AC 10^{-4} M en 1000 mS cm^{-1} tanto en el lado abaxial que en el adaxial, comparando con los demás tratamientos casi es similar la densidad de células en las dos superficies foliares. Sin embargo en la combinación de mayor conductividad 2500 mS cm^{-1} y menor cantidad de ácido cítrico $1 \times 10^{-2} \text{ Mol}$ la densidad de células tabloides fue mayor que los demás tratamientos tanto en el lado adaxial como en el abaxial.

Para el caso de la aplicación de ácido cítrico en lechuga con la concentración 1×10^{-5} M de AC aumento la densidad de células tabloides, sin embargo la concentración 1×10^{-4} M de AC disminuyo el índice del numero de estomas y numero de células tabloides (Ramos, 2002).

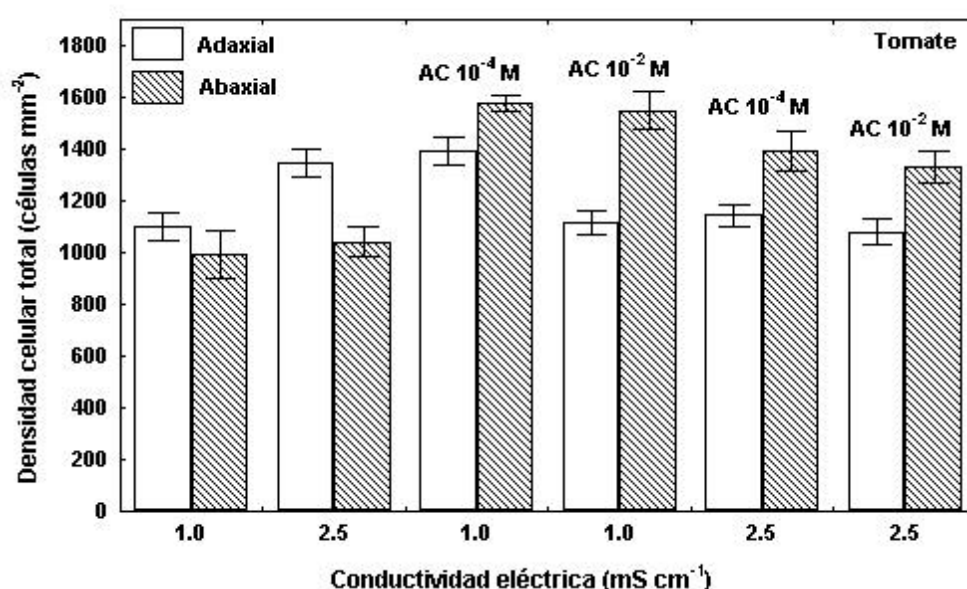


Fig. 1. 14 Células en mm^2 del testigo, AC 10^{-4} M, AC 10^{-2} en lado adaxial y abaxial de la hoja .

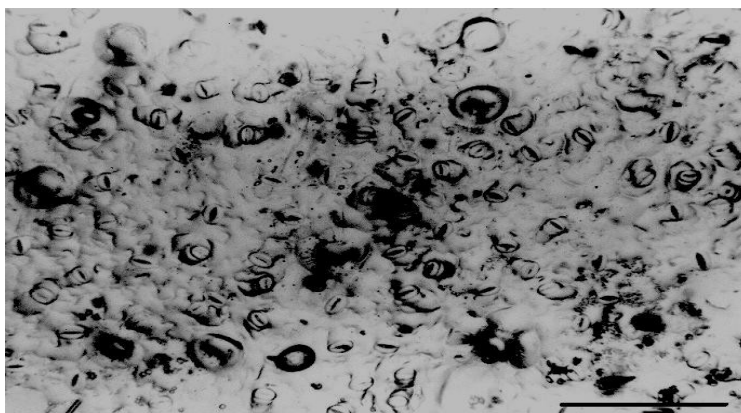


Fig. 1.15 Estomas en el envés de la hoja del T2 de Tomate.

Densidad celular total

En esta variable la densidad celular total, se observo en el tratamiento sin ácido cítrico no hubo diferencia en los dos rangos de conductividad en las dos superficies foliares (Figura 1.14), pero en las diferentes concentraciones de ácido cítrico son mayores en el lado abaxial en los diferentes rangos de conductividad eléctrica, pero es menor en el lado adaxial en los diferentes tratamientos.

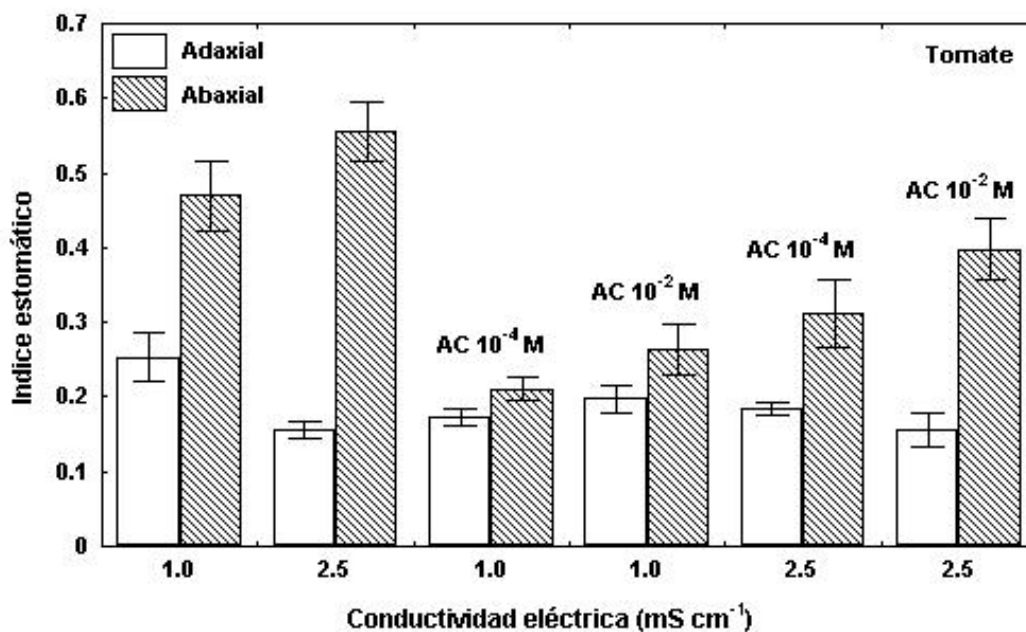


Fig. 1.16 Índice estomático del testigo, AC 10⁻⁴ M, AC 10⁻² en lado adaxial y abaxial de la hoja .

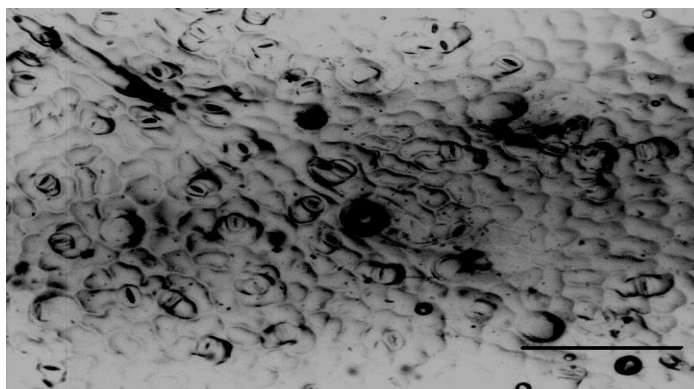


Fig. 1.17 Estomas en el haz de la hoja del T2 de Tomate

Índice estomático

En lo referente a esta variable (Cuadro 6A), se observó que el testigo es significativo en ambos lados tanto en adaxial como en abaxial en los diferentes rangos de conductividad eléctrica. (Figura 1.16), pero se observa que con las aplicaciones de ácido cítrico, los tratamientos no fueron estadísticamente significativos, pero se nota una diferencia en el lado abaxial y adaxial para todos los tratamientos en los diferentes rangos de conductividad.

En la variable densidad estomática (cuadro 5A), tanto adaxial como abaxial el mejor tratamiento fue T3: 2500×10^{-2} , los demás no mostraron diferencias significativas. En la variable densidad células tabloides adaxial el T2: 2500 mS/cm^{-1} fue el mejor y en la abaxial fue el T1: 1000 mS/cm^{-1} , los demás no mostraron diferencias significativas.

4.1.2 Pimiento

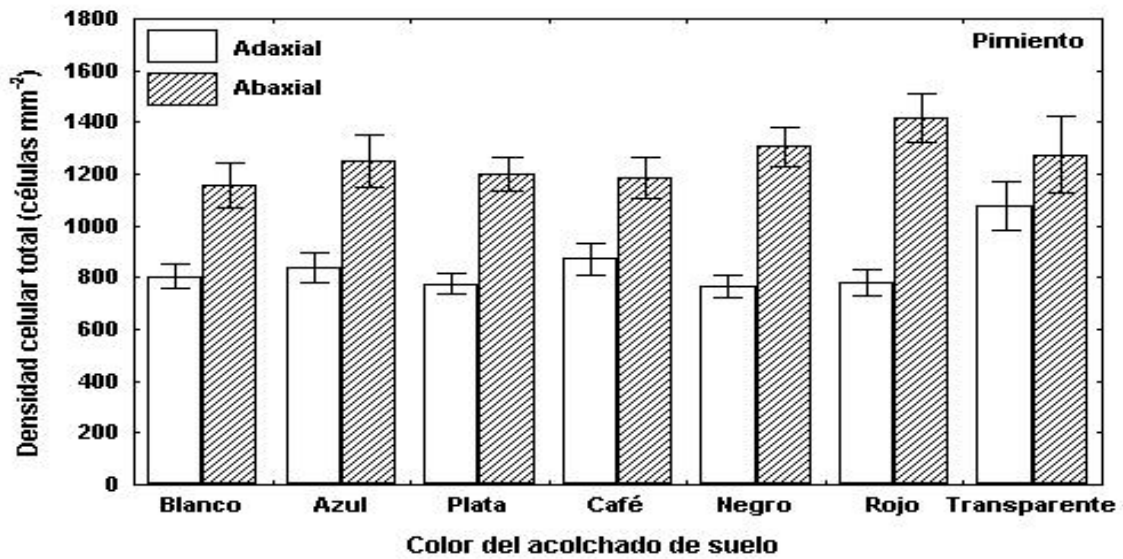


Fig. 1.1 Células en mm² en lado adaxial y abaxial de la hoja en diferentes colores de acolchado plástico del suelo.

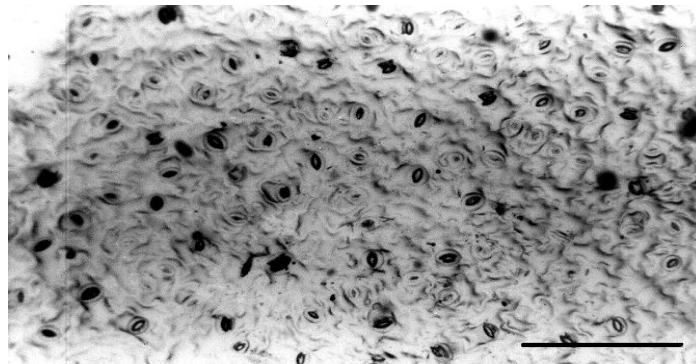


Fig. 1.2 Estomas en el envés de la hoja nueva en pimiento con acolchado plástico negro.

Densidad Celular Total

En lo referente a esta variable (Cuadro 5A), se observó que con la aplicación de acolchado de colores al suelo, los tratamientos se comportaron casi similares, pero se observa que el color rojo es mayor en el lado abaxial que en el adaxial, (Figura 1.1), sin embargo. Se puede decir que comparando este color con los demás se encontró una diferencia altamente significativa, siendo este el tratamiento con mayor densidad celular total.

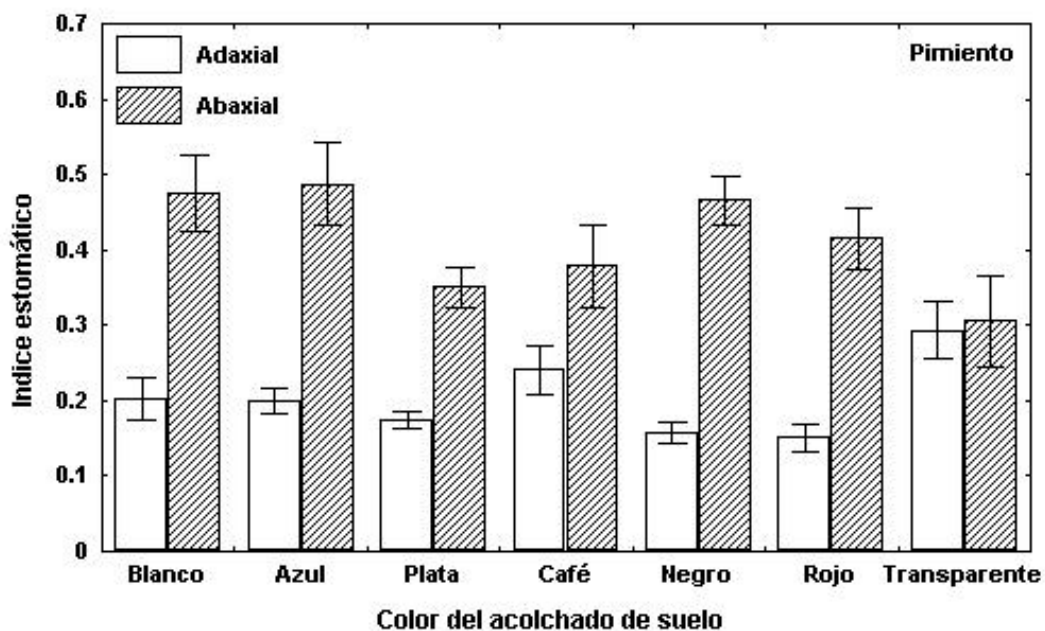


Fig. 1.3 Índice estomático en lado adaxial y abaxial de la hoja en diferentes colores de acolchado plástico del suelo.

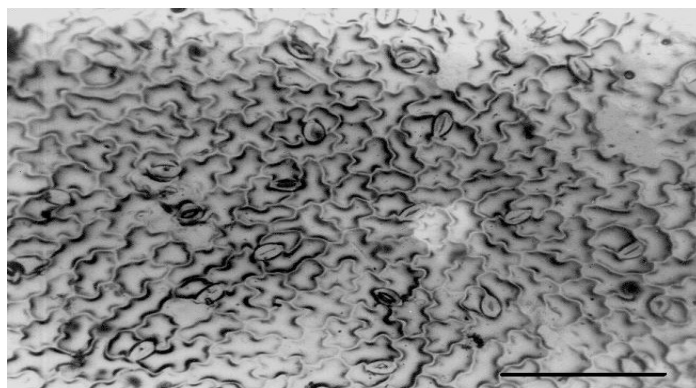


Fig. 1.4 Estomas en el haz de la hoja nueva en pimiento con acolchado plástico negro.

Índice Estomático

Para esta variable se observó (Cuadro 5A) que en todos los tratamientos el índice estomático adaxial es mucho menor que el abaxial, y mientras que el acolchado transparente, café y blanco presentan significativamente mayor índice estomático adaxial que los demás colores, por el contrario el índice estomático abaxial fue significativamente mayor en los acolchados blanco y azul.

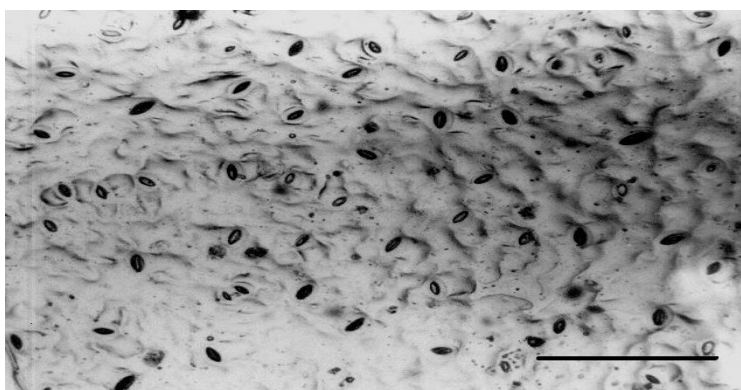


Fig. 1.6 Estomas en el envés de la hoja vieja en pimiento con acolchado plástico negro.

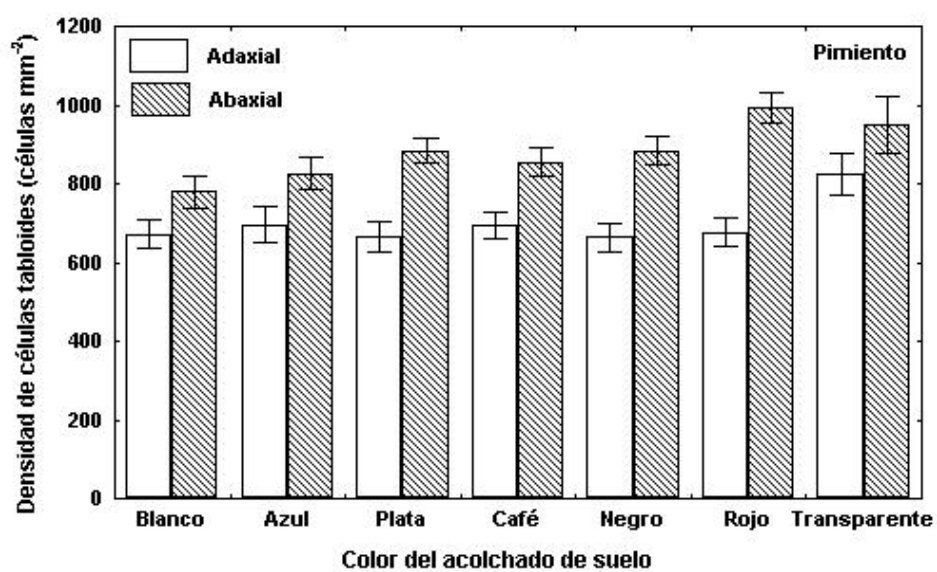


Fig. 1.7 Células tabloides en mm² en lado adaxial y abaxial de la hoja en diferentes colores de acolchado plástico del suelo.

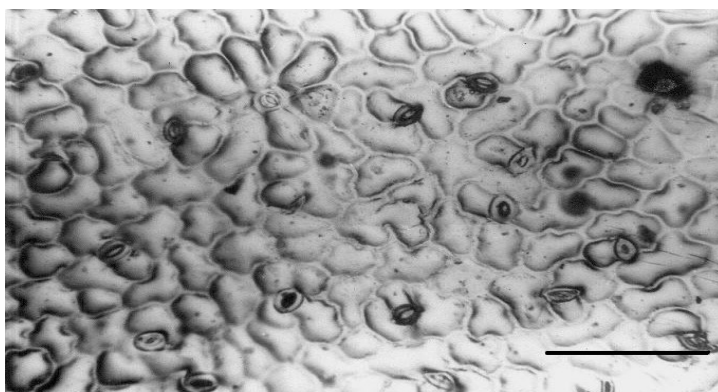


Fig. 1.8 Estomas en el haz de la hoja vieja en pimiento con acolchado plástico negro.

Densidad de células tabloides

En lo referente a esta variable, (Cuadro 5A), si hay diferencia significativa entre tratamientos, se observa que el mejor tratamiento es el color rojo, en relación a densidad de células tabloides en el lado abaxial que en el adaxial, (Figura 1.7) mientras que el tratamiento transparente es mayor en el lado adaxial que el abaxial, sin embargo, si hay diferencia significativa en los tratamientos.

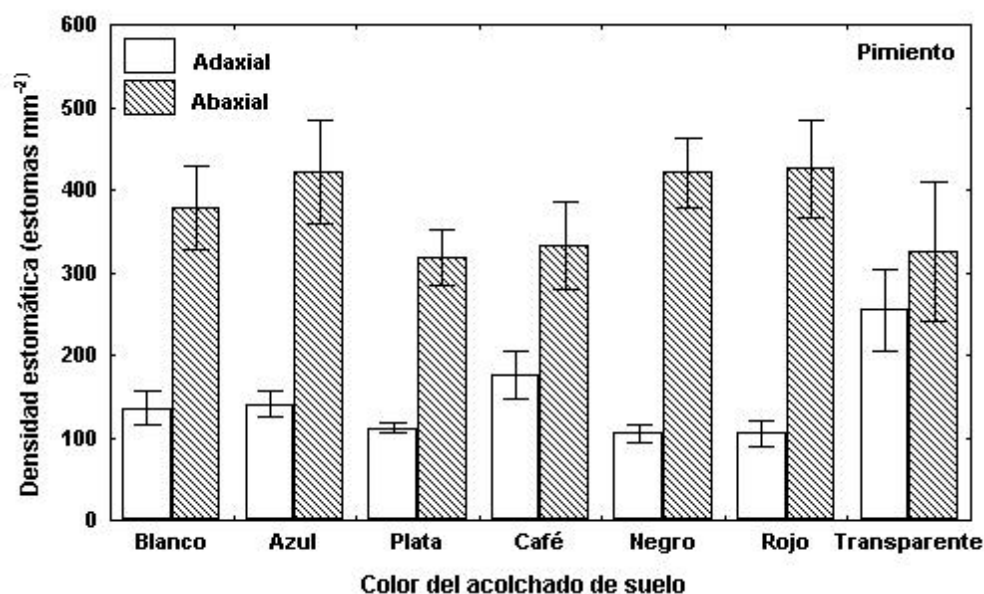


Fig. 1.9 Estomas en mm² en lado adaxial y abaxial de la hoja en diferentes colores de acolchado plástico del suelo.

Densidad estomática

Para esta variable (Cuadro 5A), se observa que estadísticamente en los tratamientos no se encontraron diferencias significativas en el lado abaxial, (Figura 1.9), sin embargo, si se encontraron diferencias en el lado adaxial siendo los

tratamientos transparente seguido del café, los que presentaron significativamente mayor densidad estomatica adaxial.

En la variable densidad estomatica (Cuadro 5A), adaxial el mejor tratamiento fue el transparente, siguiéndole el tratamiento café, los demás no mostraron diferencias significativas. En la densidad estomatica abaxial no hay diferencias entre los tratamientos. Al igual en la variable densidad células tabloides adaxial el transparente fue el mejor, siguiéndole el azul y negro; pero en la densidad células tabloides abaxial fue mejor el rojo presentado una mínima diferencia con el transparente, los demás no mostraron diferencias significativas. En cuanto a la variable densidad celular total adaxial el mejor tratamiento fue el transparente, siguiéndole el café, el negro y en los demás no hay diferencias significativas.

En cuanto a la variable índice estomatico adaxial el transparente fue el mejor, siguiéndole con una mínima diferencia el blanco, pero en el índice estomatico abaxial el mejor fue el azul, posteriormente el blanco y los demás no mostraron diferencia significativa. en relación a induce adaxial/abaxial fue también fue el transparente siguiéndole el café, los demás no mostraron diferencias significativas.

4.2 Anatomía de pecíolos y pedúnculos

4.2.1 Tomate

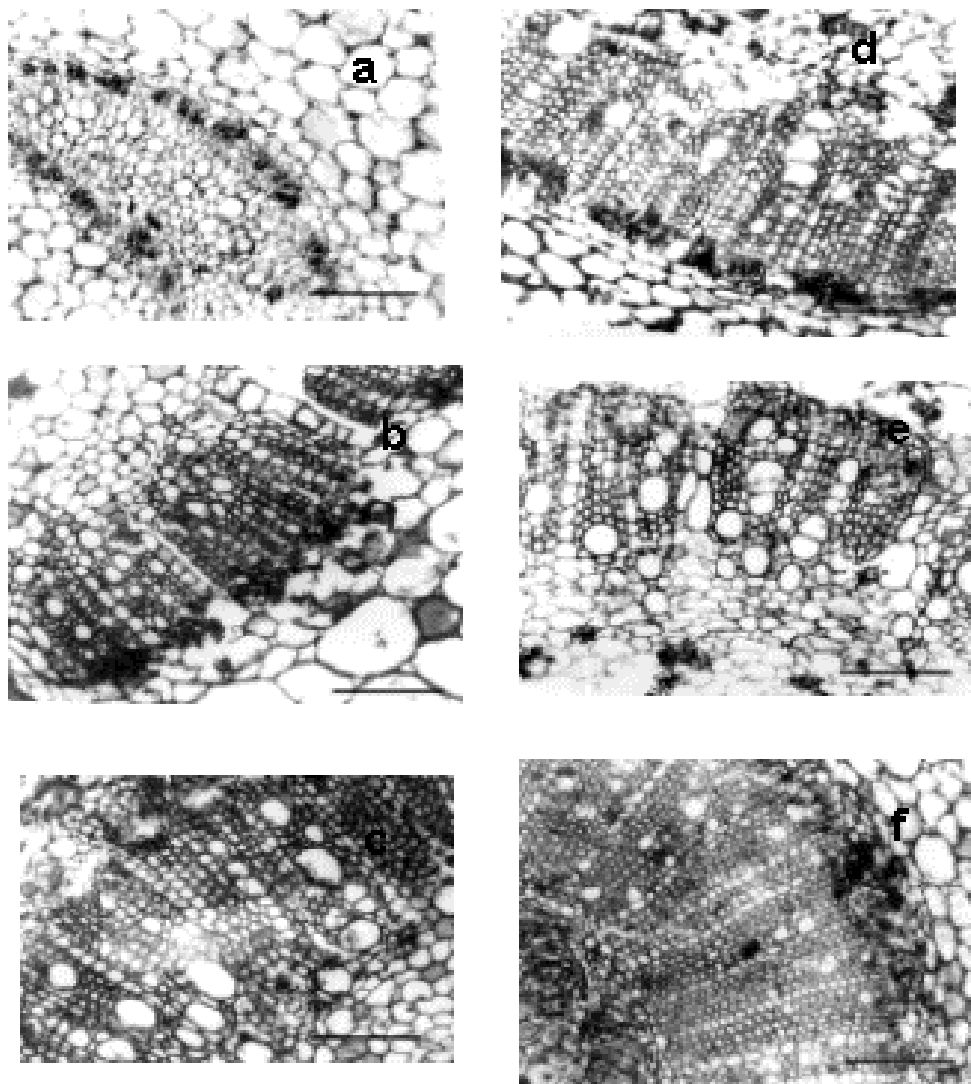


Fig. 2.5. Corte transversal (10x) de pecíolo de Tomate con diferentes aplicaciones de Ácido cítrico y Conductividad eléctrica; a) T2 2500 mScm⁻¹ , b) T1 1000 mScm⁻¹ , c) T4 2500 mScm⁻¹ + 10⁻⁴, d) T6 1000 mScm⁻¹ + 10⁻⁴, e) T3 2500 mScm⁻¹ + 10⁻², f) T5 1000 mScm⁻¹ + 10⁻².

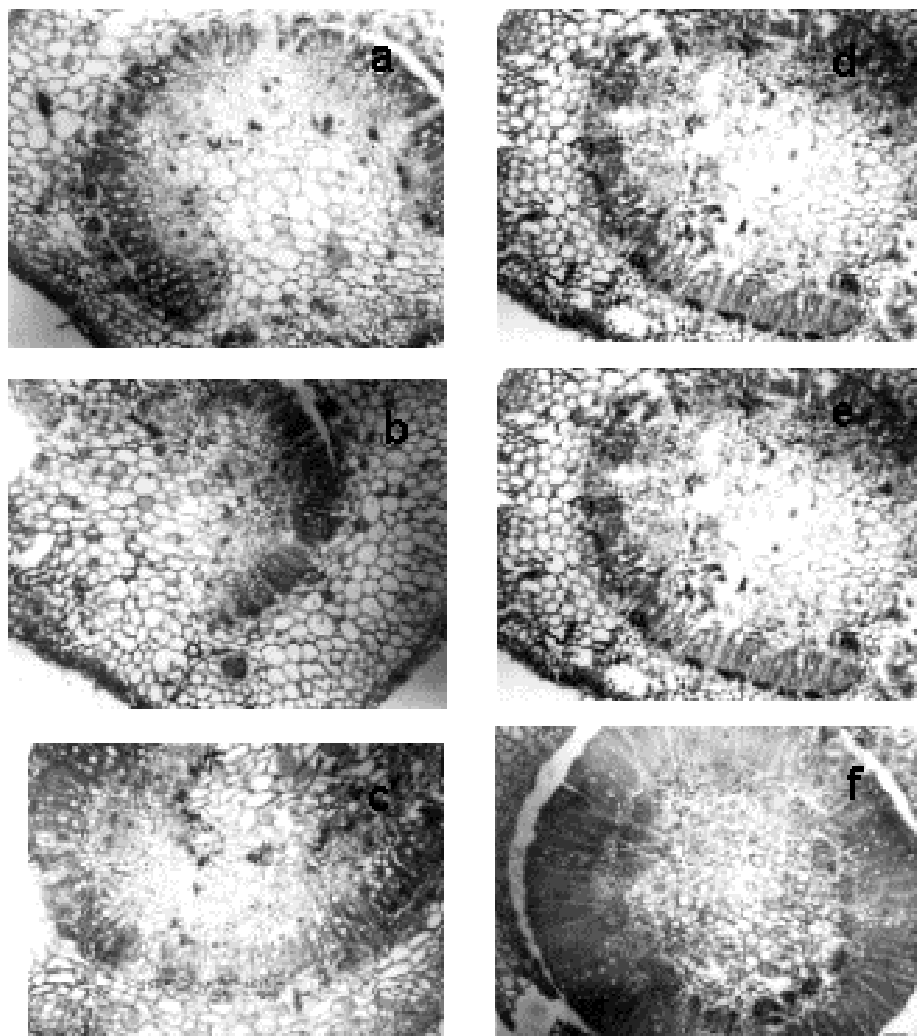


Fig. 2.6. Corte transversal (2.5x) de pecíolo de Tomate con diferentes aplicaciones de Ácido cítrico y Conductividad eléctrica; a) T2 2500 mScm⁻¹ , b) T1 1000 mScm⁻¹ , c) T4 2500 mScm⁻¹ + 10⁻⁴, d) T6 1000 mScm⁻¹ + 10⁻⁴, e) T3 2500 mScm⁻¹ + 10⁻², f) T5 1000 mScm⁻¹ + 10⁻².

En base al cuadro 3A podemos notar claramente las diferencias de los tratamientos, que son mayores en cuanto a tamaño y número de células parenquimatosas, xilema y floema en el T1 comparado con el testigo, (Figuras 2.5 y 2.6) siguiendo los tratamientos T3 y T5 donde los resultados también fueron mayores; a excepción de los tratamientos T4 y T6 que mostraron menor diferencia en cuanto a tamaño y número de células parenquimatosas, xilema y floema.

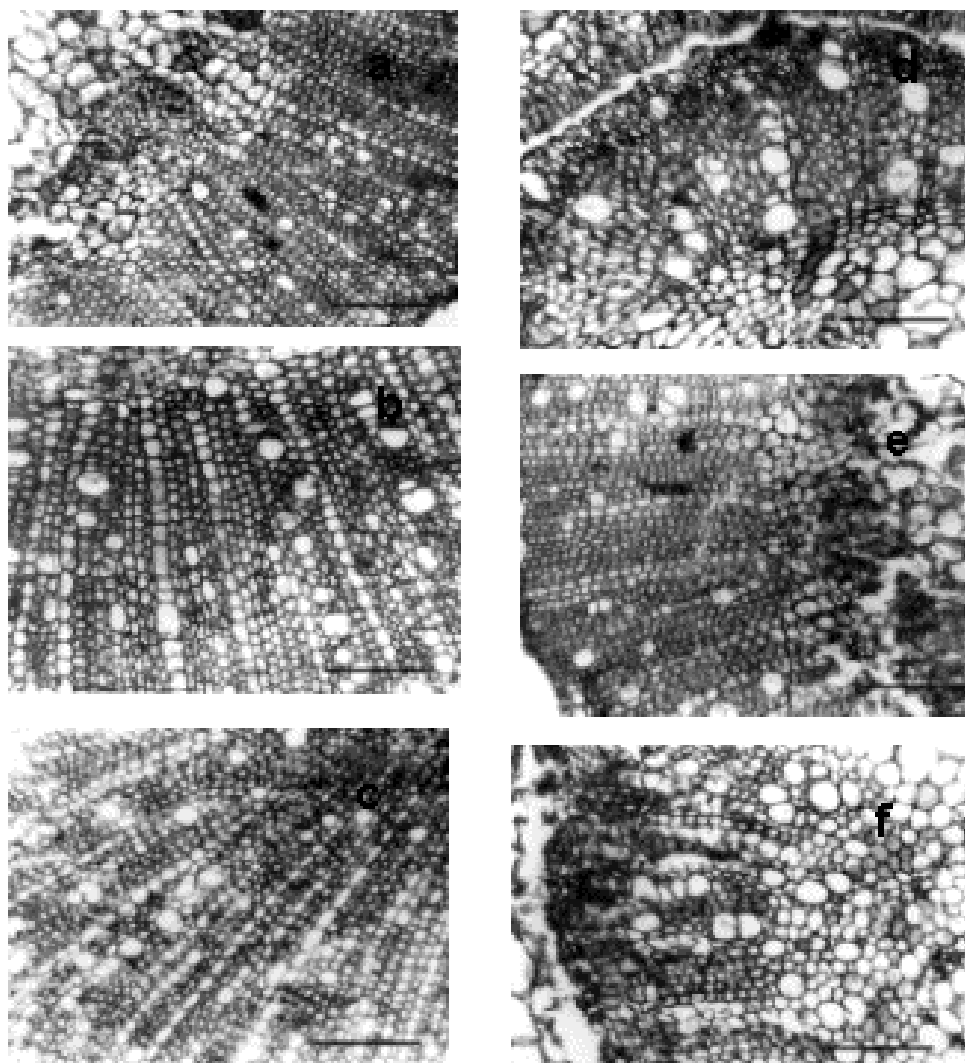


Fig. 2.7. Corte transversal (10x) de pedúnculo de Tomate con diferentes aplicaciones de Ácido cítrico y Conductividad eléctrica; a) T2 2500 mScm⁻¹ , b) T1 1000 mScm⁻¹ , c) T4 2500 mScm⁻¹ + 10⁻⁴, d) T6 1000 mScm⁻¹ + 10⁻⁴, e) T3 2500 mScm⁻¹ + 10⁻², f) T5 1000 mScm⁻¹ + 10⁻².

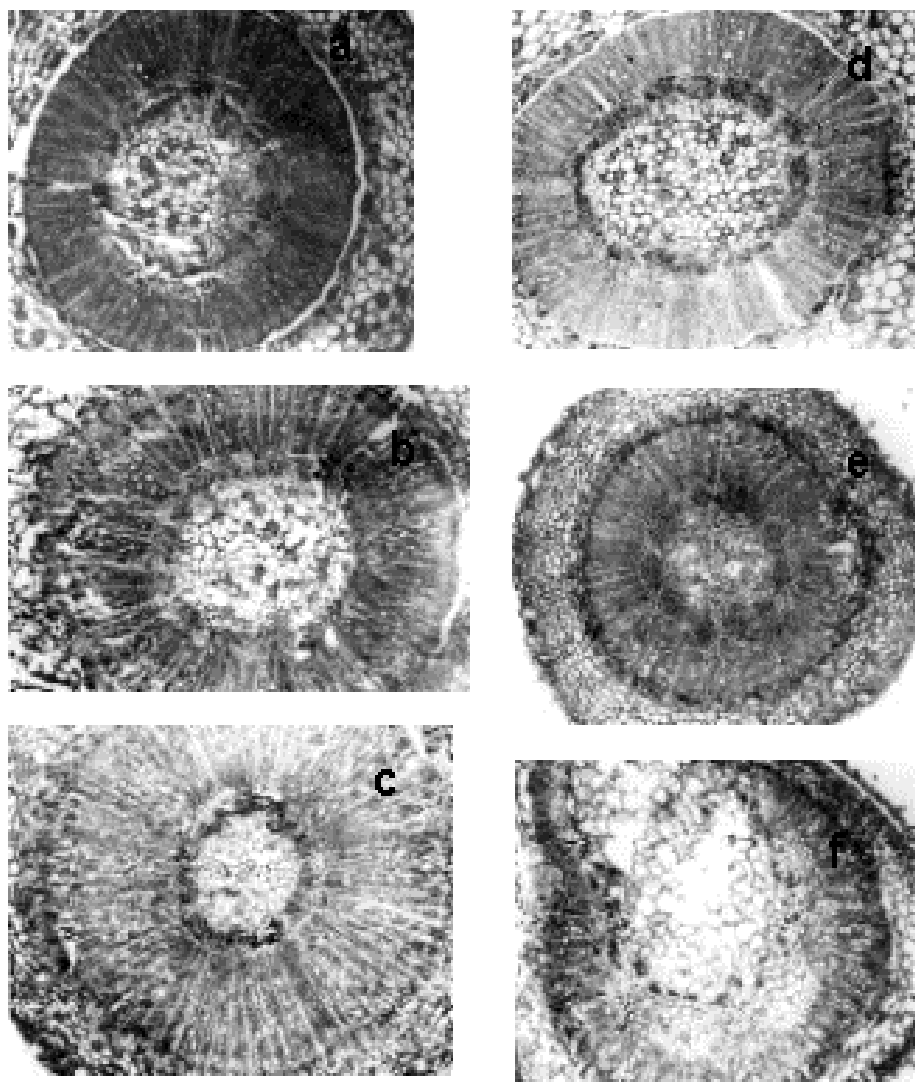


Fig. 2.8. Corte transversal (2.5x) de pedúnculo de Tomate con diferentes aplicaciones de Ácido cítrico y Conductividad eléctrica; a) T2 2500 mScm⁻¹ , b) T1 1000 mScm⁻¹ , c) T4 2500 mScm⁻¹ + 10⁻⁴, d) T6 1000 mScm⁻¹ + 10⁻⁴, e) T3 2500 mScm⁻¹ + 10⁻², f) T5 1000 mScm⁻¹ + 10⁻².

En el cuadro 4A podemos notar claramente las diferencias de los tratamientos, que son mayores en cuanto a tamaño y número de células parenquimatosas, xilema y floema en el T6 comparado con los demás tratamientos que se mantuvieron dentro de un nivel medio a alto ; (Figuras 2.7 y 2.8) a excepción del T5 que mostró menor diferencia en cuanto a tamaño y número de células parenquimatosas, xilema y floema.

4.2.2 Pimiento

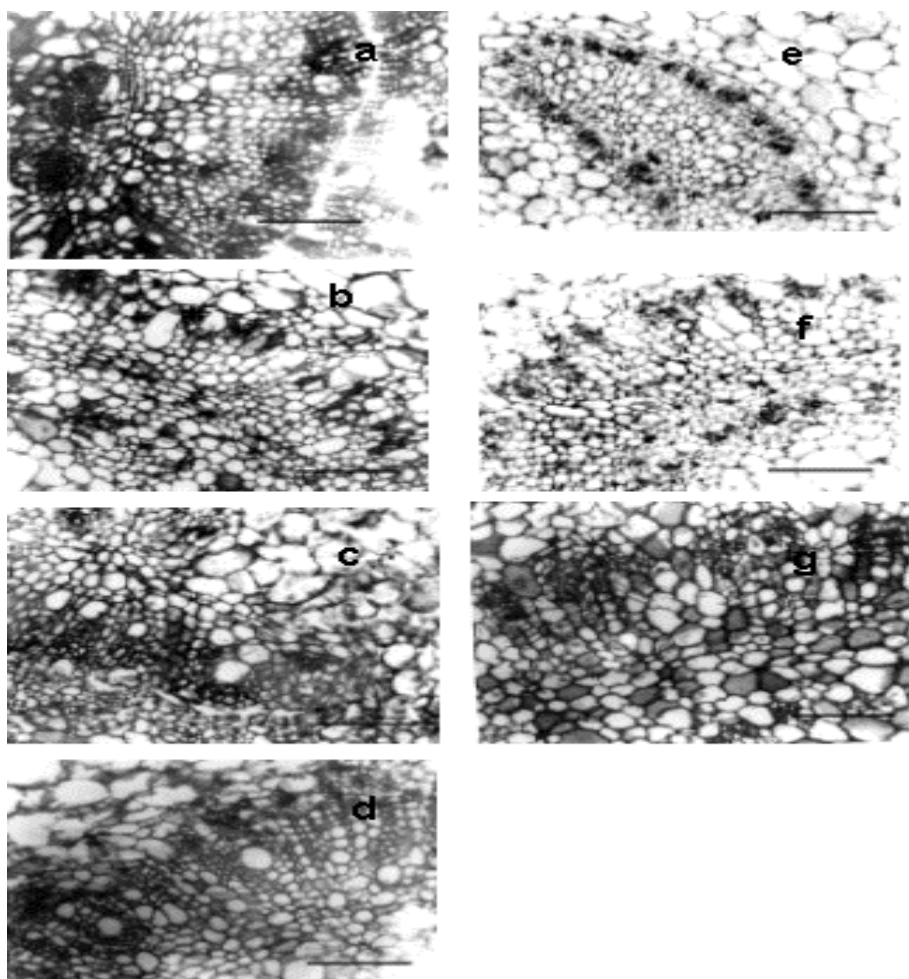


Fig. 2.1. Corte transversal (10x) de pecíolo de pimienta con diferentes colores de acolchado plástico; a) Negro, b) Trans, C) Gris, d) Azul, e) Rojo, f) café, g) Blanco.

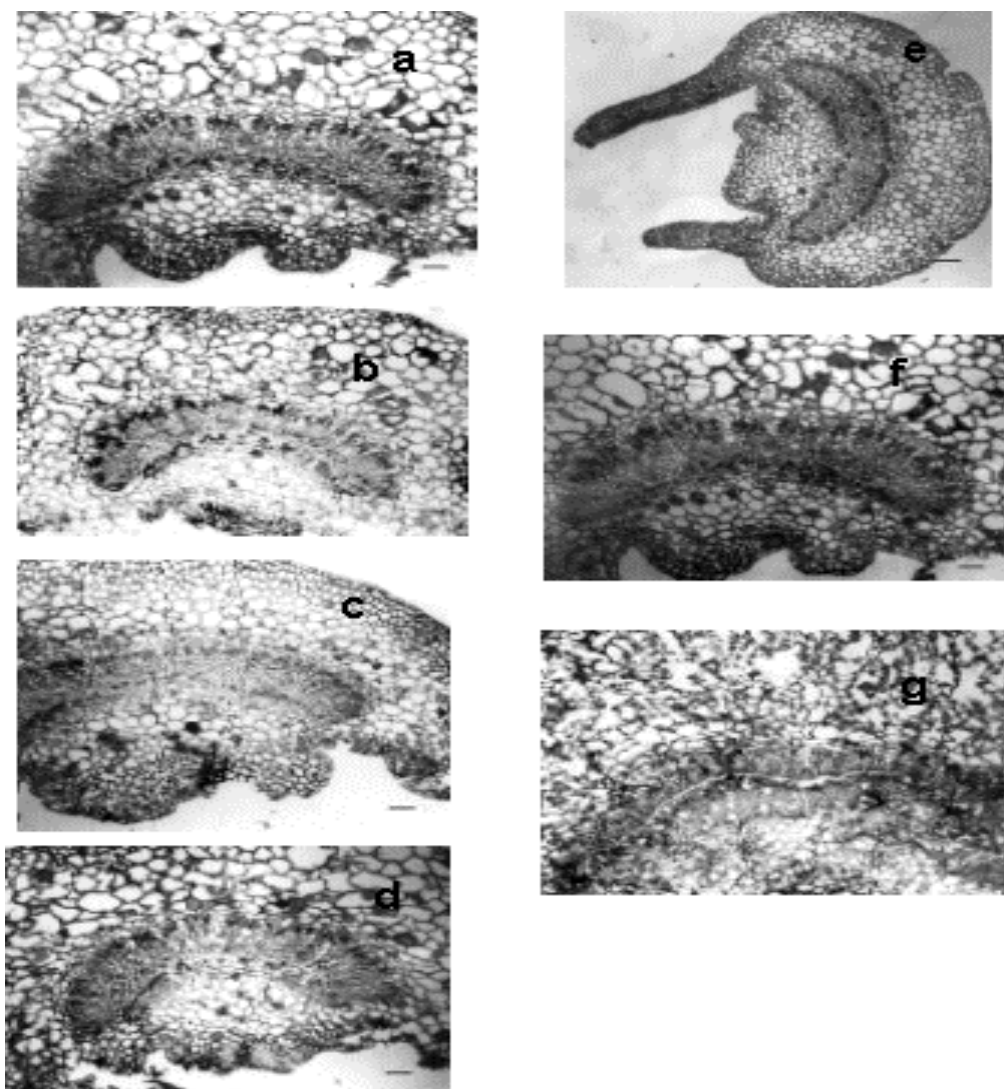


Fig. 2.2. Corte transversal (2.5x) de pecíolo de pimienta con diferentes colores de acolchado plástico; a) Negro, b) Trans, C) Gris, d) Azul, e) Rojo, f) café, g) Blanco.

En base al cuadro 1A podemos notar claramente las diferencias de los tratamientos, que son mayores en cuanto a tamaño y número de células parenquimatosas, xilema y floema; (Figuras 2.1 y 2.2) a excepción de los tratamientos pecíolo trans y pecíolo blanco, estos mostraron menor diferencia en cuanto a tamaño y número de células parenquimatosas, xilema y floema; en comparación con el testigo (pecíolo negro) es mayor a todos lo tratamientos.

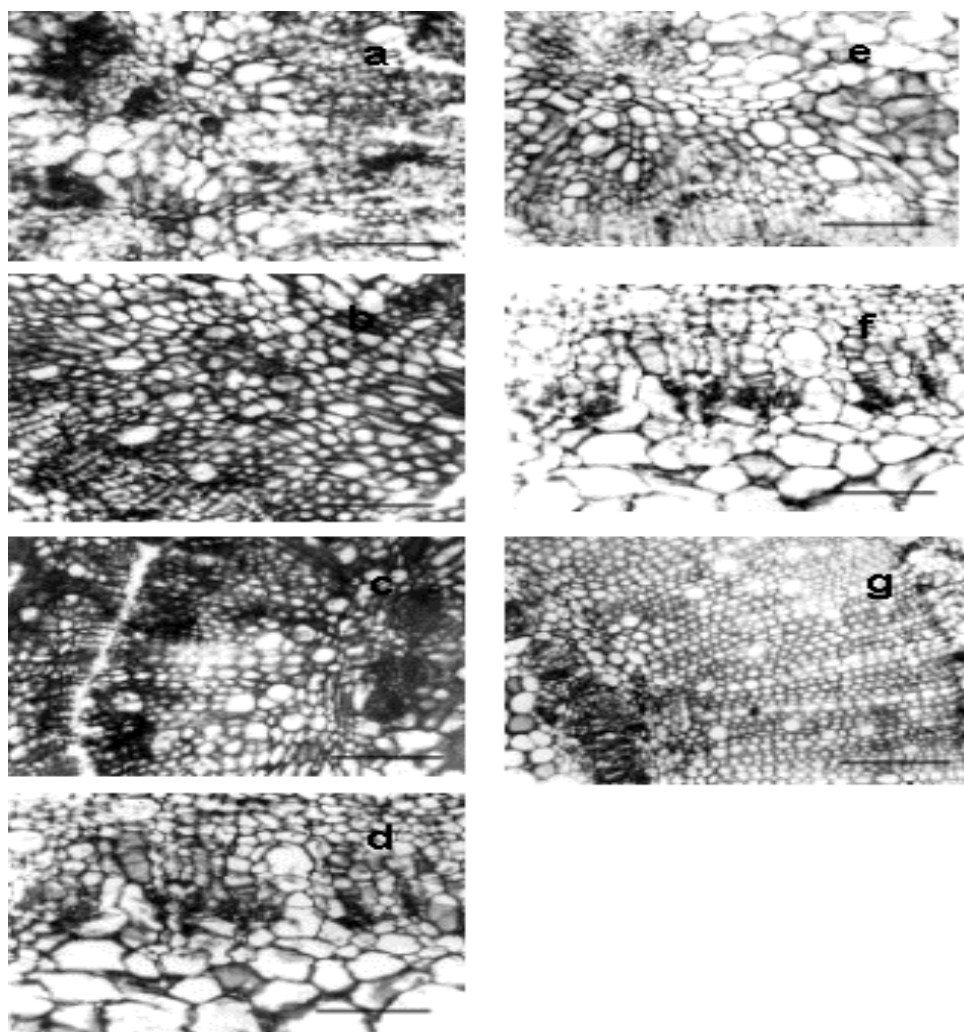


Fig. 2.3. Corte transversal (10x) de pedúnculo de pimiento con diferentes colores de acolchado plástico; a) Negro, b) Trans, C) Gris, d) Azul, e) Rojo, f) café, g) Blanco.

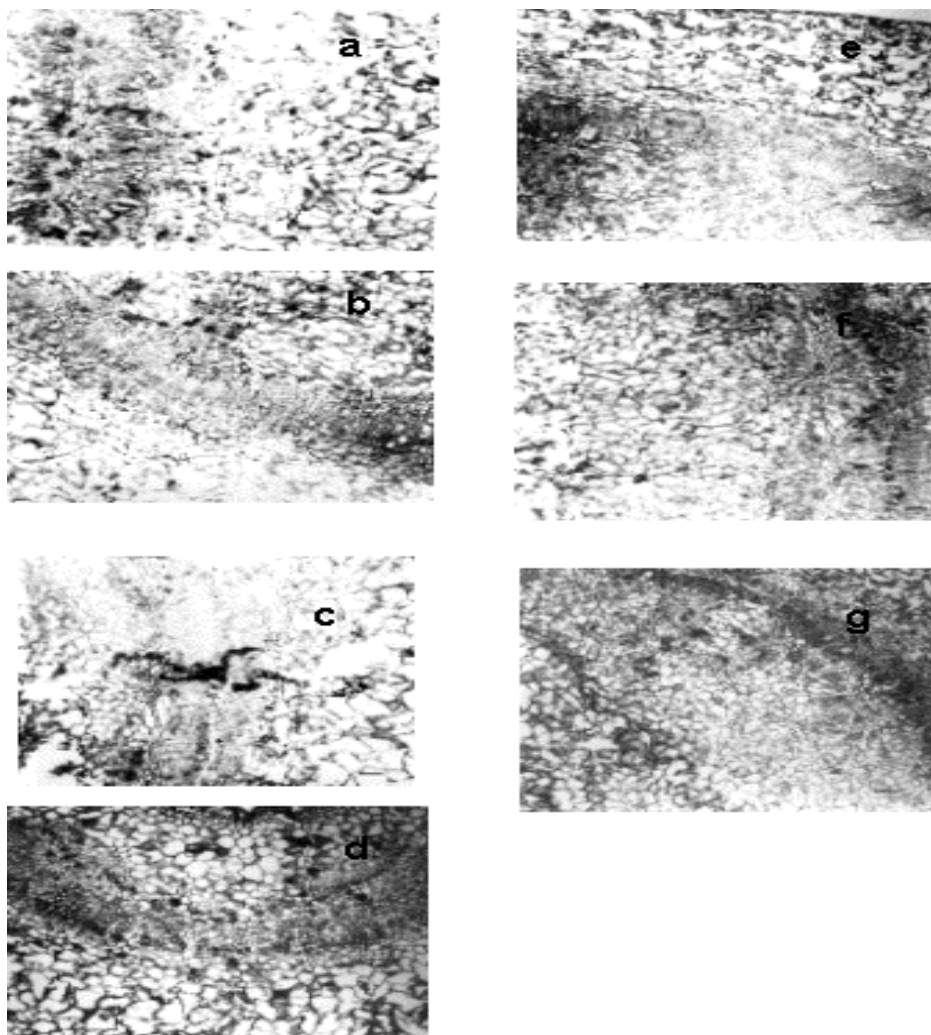


Fig. 2.4. Corte transversal (2.5x) de pedúnculo de pimiento con diferentes colores de acolchado plástico; a) Negro, b) Trans, C) Gris, d) Azul, e) Rojo, f) café, g) Blanco.

Al compararse los resultados del cuadro 2A, podemos explicar la respuesta general observada en los tratamientos en cuanto a tamaño y número de células parenquimatosas, en xilema y floema son mayores; (Figuras 2.3 y 2.4) a excepción del tratamiento pedúnculo café que mostró menor diferencia en comparación con los demás tratamientos incluyendo al testigo (pedúnculo negro).

La disponibilidad del Ácido cítrico modificó la anatomía de los pecíolos y pedúnculos en tomate y pimiento. Estos se asociaron con cambios así mismo con la productividad, la morfología y el contenido de azúcares, pero reduce el contenido de almidón en la fruta y tejidos vegetales. (García, 2002).

Aunque la cantidad y la tasa de fotosíntesis son características que originan cambios en la morfología de las plantas, es probable que el factor inductor más importante para determinar las diferencias observadas en las plantas fuera algún cambio en la sensibilidad frente a las citoquininas.

Este pudiera explicar la respuesta general observada en los tejidos en cuanto a tamaño y número de células parenquimáticas.

Sperry et al. (2002) reportaron que la morfología y crecimiento de las plantas son un reflejo de la habilidad de las mismas para absorber, transportar y acumular agua. En lo que se refiere al transporte la conductividad hidráulica del agua (depende en buena parte del número y tamaño del lumen de los vasos del xilema) parece ser la característica clave en las relaciones hídricas de las plantas con su ambiente.

CONCLUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos del presente trabajo, se concluye lo siguiente:

Para el caso de la densidad e índice estomático, y aunque para pimiento mostró mayor número en adaxial y abaxial con los diferentes colores de acolchado plástico, el tratamiento mayor fue el acolchado azul para densidad e índice estomático, el tratamiento menor fue el acolchado plata, comparado con el testigo fue menor.

La modificación de la solución nutritiva y la conductividad eléctrica, para la densidad e índice estomático en tomate mostró mayor número en adaxial y abaxial con las diferentes concentraciones, el tratamiento mayor tanto en el lado adaxial y abaxial fue AC 10^{-2} M en 2500 mScm^{-1} C.E, el tratamiento menor es AC 10^{-4} M en 1000 mScm^{-1} C.E, comparado el testigo fueron mayor con la modificación de la solución nutritiva.

El xilema y floema de pecíolos y pedúnculos en tomate mostraron mayor número y tamaño con las diferentes concentraciones modificadas de la solución nutritiva y la conductividad eléctrica, el tratamiento mayor en pecíolos fue el T1 con 1000 mScm^{-1} C.E en número y tamaño de xilemas y floemas, respecto a pedúnculos fue mayor el T6 $1000 \text{ mScm}^{-1} + 10^{-4}$ M, el tratamiento menor fue en pedúnculos fue T5 con $1000 \text{ mScm}^{-1} + 10^{-2}$ M y pecíolos fue T4 con $2500 \text{ mScm}^{-1} + 10^{-2}$ M, comparado con el testigo fueron mayor con la modificación de la solución nutritiva

En cuanto al numero y tamaño del xilema y floema de pecíolos y pedúnculos de pimiento mostraron una tendencia mayor con los diferentes colores del acolchado plástico, el tratamiento mayor en pecíolos fue con acolchado negro en número y tamaño de xilemas y floemas, respecto a pedúnculos fue mayor el acolchado azul, fue menor el acolchado transparente en pecíolos y pedúnculos el acolchado café comparados con el testigo solo hubo cambios en los pedúnculos.

LITERATURA CITADA

Allard, G., C. J. Nelson and S. G. Pallardy. 1991^a. Shade Effects on Growth of Tall Fescue : I Leaf Anatomy and Dry Matter Partitioning. Crop Sci. 31. 163-167. U.S.A.

Berger. D., L. Willmitzer and T. Altamm. 1997. Molecular / genetic analysis of stomatal development. 8th International Meeting on Arabidopsis Research. Madison, Wisconsin.
http://genome-www.tanford.edu/Arabidopsis/madison97/al97abs/imar_3-1.html

Benavides, A., R.K. Maiti, G.E. Terán. 1993. el balance espectral de la radiación y la fotomorfogenesis y productividad de los vegetales. Monografía técnica. Centro de Investigaciones de Química Aplicada. 46 p.

Borthwick, H. A. and M.W. Parker. 1940. Floral Initiation in Boloxi Soybeans as Influenced by Age and Position of Leaf Receiving Photoperiodic Treatment. Bot. Gaz. 101 :806-817. U.S.A Editorial Butler and Tanner Ltd.

Edwin F. George. 1993. Plant propagation by tissue culture. Segunda edición.
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. 1972. Anatomía Vegetal. Segunda Edición, ediciones Omega S.A. Barcelona España. pp. 179-181

Fahn, A. 1974. Anatomía Vegetal. Segunda Edición . Ediciones H. BLUME. Madrid España. pp. 274-277.

Flores, V. J. 1996. Caracterización agronómica de películas fotoselectivas para acolchado en el cultivo de chile Anaheim con fertirrigación. Tesis de Maestría en Horticultura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coah. 107 p.

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.

García, P.C. 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 Licenciatura UAAAN. Buenavista , Saltillo, Coahuila.

Goldschmidt E.E. 1976. Endogenous growth substances of citrus tissues. Hort-Science 11, 95-99.

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

Hortalizas, Frutas y Flores, 1992. Informe Especial. Revista Hortalizas, Frutas y Flores. Editorial Año 2000. No. 2/ Febrero 28/ 1992. México.

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.

Kasperbauer, M. J. and J. L. Hamilton. 1984. Chloroplast Structure and Starch Grain Accumulation in Leaves that Received Different Red and Far-Red Levels During Development. Plant Physiol. 74 :967-970. U.S.A.

MacAdam, J. W., J. J. Volenec and C. J. Nelson. 1989. Effects on Nitrogen on Mesophyll Cell Division and Epidermal Cell Elongation in Tall Fescue Leaf Blades. *Plant Physiol.* 89 :549-556. U.S.A.

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.

Orozco, M.A.E. 1998. El jitomate y la Biotecnología.
[http : www.laneta.apc.org/emis/Jornada/Agosto98/jitomate.htm](http://www.laneta.apc.org/emis/Jornada/Agosto98/jitomate.htm). España.

Picken, A.J.F., Stewart, K., Klapwijk, D. 1986. germination and vegetative development. En Atherton, J.G.; Rudich, j. (Eds). *The Tomato Crop*. Chapman and Hall Ltd. New York: 111-165. U.S.A.

Piña, J.M. 1994. El cultivo del chícharo (*Pisum sativum* L.) su respuesta bajo condiciones de acolchado de suelos y azufre elemental. Tesis de Licenciatura en Biología. División de Ciencias Biológicas, ICCAC. Saltillo, Coah.

Radoglou, K. M. and P.G. Jarvis. 1992. The effects of CO₂ enrichment and nutrient supply on growth morphology and anatomy of *Phaseolus vulgaris* L. seedlings. *Ann. Bot.* 70 : 254-256.

Rhyle, G.J.A. and J.Stanley. 1992. Effect of elevated CO₂ on stomated size and distribution in perennial ryegrass. *Ann. Bot.* 69 : 563-565.

Rodríguez, A.F.J. 2002. Cambios en la absorción de minerales y anatomía epidérmica de manzano al aplicar ácidos orgánicos. Tesis Licenciatura UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Ramonell, K.M., M.L. . Crispi and M.E. Musgrave. 1997. Changes in stomatal density in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Growth under low oxygen atmospheres. 8th International Meeting an *Arabidopsis* Research. Madison. Wiscounsinn.

www.stanford.edu/Arabidopsis/madison97/at97abs/imar_6-22.html

Schenk R.U. & Hildebrandt A.C. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Can. J. Bot.* 50, 199-204.

Sperry, J.S., U. G. Hacke. R. Oren, J.P.Comstock. 2002. Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. 2002. *Plant Cell Environ.* 25 :251-263. U.S.A.

Thompson, H. F., M. J. White. 1991. Physiological and molecular studies of light regulated nuclear genes in higher plants. *Annu. Rev. plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42:423-466.

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

Valadez, L. A. 1996. Producción de Hortalizas. Primera edición, tercera reimpresión. Editorial Limusa. México. 298p.

Valadez, L. A. 1996. Producción de Hortalizas. Quinta reimpresión. Editorial Limusa, S.A de C .V. México D.F

Van Overbeek J., Conklin M.E. & Blakeslee A.F. 1941. Factors in coconut milk essential for growth and development of very young *Datura* embryos. *Sciencie* 94, 350-351.

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.

Weng, J.H. and C.Y. Chen, 1998. Stomatal frequency associated with an sterase band in rice genotypes.

[http : // probenalusda.gov :8000/otherdoes/rgn/rgn5/v51v26.html](http://probenal.usda.gov:8000/otherdoes/rgn/rgn5/v51v26.html).

Woodward, F.I. 1987. Stomatal numbers are sensitive to increases in CO₂ from pre-industrial levels. *Nature* 327 : 617-618.

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.

Woledge, J. 1977. The Effects of Shanding and Cutting Treatments on the Photosynthetic Rate of Ryegrass Leaves. *Ann. Bot.* 41 :1279-1286. U.K.

www.drcalderonlabs.com/Publicaciones/Cartilla_Quelatos.pdf

Zinsou, C. And P. G. Schoch. 1979. Participation of Mature Leaves to the Expression of stomatal Index of Differentiating Young Leaves of *Vigna sinensis* L. *Physiol. Veg.* 17 : 327-336. U.S.A.

APÉNDICE

Cuadro 1A. Comparación cualitativa de las estructuras observadas en los cortes de pecíolo de pimiento (10x y 2.5x) en los diferentes tratamientos con acolchado de colores.

TRATAMIENTO	CELULAS PARENQUIMATOSAS		XILEMA		FLOEMA	
	#	TAMAÑO	#	TAMAÑO	#	TAMAÑO
PECIOLO GRIS	4	+/-	4	+	4	+
PECIOLO CAFÉ	4	+	3	+/-	4	+
PECIOLO TRANS	3	+/-	4	-	3	-
PECIOLO AZUL	4	+	4	+	2	-
PECIOLO BLANCO	3	+/-	3	+/-	2	+
PECIOLO ROJO	4	+	4	+/-	4	-
PECIOLO NEGRO	4	+	5	+/-	4	+

Simbología : 5 Muy Alto ; 4 Alto ; 3 Medio ; 2 Bajo. + Alto ; +/- Medio ; - Bajo.

Cuadro 2A. Comparación cualitativa de las estructuras observadas en los cortes de pedúnculo de pimiento (10x y 2.5x) en los diferentes tratamientos con acolchado de colores.

TRATAMIENTO	CELULAS PARENQUIMATOSAS		XILEMA		FLOEMA	
	#	TAMAÑO	#	TAMAÑO	#	TAMAÑO
PEDUNCULO GRIS	4	+	4	+	4	+
PEDÚNCULO CAFÉ	3	+/-	3	+/-	4	+
PEDUNCULO TRANS	4	+/-	4	+	4	+
PEDÚNCULO AZUL	4	+	5	+/-	4	+
PEDUNCULO BLANCO	4	+/-	5	+/-	4	+/-
PEDUNCULO ROJO	3	+/-	4	+	4	+
PEDÚNCULO NEGRO	4	+	4	+/-	4	+

Simbología : 5 Muy Alto ; 4 Alto ; 3 Medio ; 2 Bajo. + Alto ; +/- Medio ; - Bajo.

Cuadro 3A. Comparación cualitativa de las estructuras observadas en los cortes de pecíolo de tomate (10x y 2.5x) en los diferentes tratamientos con diferente aporte de ácido cítrico.

TRATAMIENTO	CELULAS PARENQUIMATOSAS		XILEMA		FLOEMA	
	#	TAMAÑO	#	TAMAÑO	#	TAMAÑO
PECÍOLO T1	5	+	4	+	4	+
PECÍOLO T2	4	+	4	+/-	4	-
PECÍOLO T3	4	+	4	+	4	+/-
PECÍOLO T4	3	+/-	4	+/-	4	+
PECÍOLO T5	4	+/-	4	+	4	+
PECÍOLO T6	4	+/-	3	+/-	4	+

Simbología : 5 Muy Alto ; 4 Alto ; 3 Medio ; 2 Bajo.

+ Alto ; +/- Medio ; - Bajo.

Cuadro 4A. Comparación cualitativa de las estructuras observadas en los cortes de pedúnculo de tomate (10x y 2.5x) en los diferentes tratamientos con diferente aporte de ácido cítrico.

TRATAMIENTO	CELULAS PARENQUIMATOSAS		XILEMA		FLOEMA	
	#	TAMAÑO	#	TAMAÑO	#	TAMAÑO
PEDUNCULO T1	3	+/-	5	+	4	+/-
PEDUNCULO T2	4	+	4	+	3	+/-
PEDUNCULO T3	4	+	4	+	4	+
PEDUNCULO T4	3	-	4	+	4	+/-
PEDUNCULO T5	3	-	3	+/-	5	+
PEDUNCULO T6	4	+	4	+	5	+

Simbología : 5 Muy Alto ; 4 Alto ; 3 Medio ; 2 Bajo. + Alto ; +/- Medio ; - Bajo.

Cuadro 5A. Comparación de medias de las diferentes variables con respecto a tratamientos en el cultivo de pimienta.

Tratamiento	Densidad Estomática Adaxial	Densidad Estomática Abaxial	Densidad Tabloides Adaxial	Densidad Tabloides Abaxial	Densidad Celular Total Adaxial	Densidad Celular Total Abaxial
BLANCO	824.84 b	378.47 a	670.40 b	779.2 b	806.17 b	1157.50 b
	140.86 b	422.60 a	695.85 b	826.54 b	836.72 b	1249.15 b
AZUL	112.1 b	317.37 a	665.30 b	884.24 b	777.32 b	1201.62 b
PLATA	176.51 ab	332.65 a	695.85 b	855.39 b	872.36 ab	1188.5 b
CAFÉ	105.22 b	420.90 a	663.61 ab	884.24 b	768.83 b	1305.16 b
NEGRO	105.23 b	426.0 a	677.18 b	992.87 a	782.41 b	1418.87 a
ROJO	824.84 a	325.86 a	824.84 a	948.74 ab	1079.43 a	1274.61 b
TRANS						

Tratamiento	Índice Estomático Adaxial	Tratamiento	Índice Estomático Abaxial	Tratamiento	Índice Adaxial / Abaxial
BLANCO	.2024 b	BLANCO	.4743 ab	BLANCO	.3866 b
AZUL	.1997 b	AZUL	.4870 a	AZUL	.3695 b
PLATA	.1733 b	PLATA	.3509 b	PLATA	.3885 b
CAFÉ	.2414 a b	CAFÉ	.3787 b	CAFÉ	.6651 ab
NEGRO	.1581 b	NEGRO	.4660 b	NEGRO	.2698 b
ROJO	.1505 b	ROJO	.4147 b	ROJO	.2716 b
TRANS	.2937 a	TRANS	.3059 b	TRANS	1.913 a

Cuadro 6A. Comparación de medias de las diferentes variables con respecto a Tratamientos en el cultivo de Tomate.

Tratamiento	Densidad Estomática Adaxial	Densidad Estomática Abaxial	Densidad Células Tabloides Adaxial	Densidad Células Tabloides Abaxial
T1:1000 mS/cm ⁻¹	210.45 b	300.40 b	887.64 b	690.76 a
T2:2500 mS/cm ⁻¹	181.60 b	364.90 b	1165.98 b	677.18 a
T3:2500 x 10 ⁻²	207.6 a	274.94 a	1186.35 a	1301.76 b
T4:2500 x 10 ⁻⁴	183.29 b	327.56 b	931.77 b	1221.99 b
T5:1000 x 10 ⁻²	179.90 b	327.57 b	965.71 b	1065.85 b
T6:1000 x 10 ⁻⁴	147.65 b	378.47 b	931.77 b	952.13 b