

168  
2ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO PRELIMINAR DEL EFECTO DE NIVELES  
ELEVADOS DE BIOXIDO DE CARBONO ATMOSFERICO  
EN ALGUNOS PARAMETROS DE CRECIMIENTO EN  
*Lepidium sativum* L.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A :

PATRICIA SANCHEZ ESPINO

MEXICO, D. F.

1994

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



SECRETARIA DE EDUCACION  
CULTURA Y DEPORTE



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**DOY GRACIAS**

**" A MI PADRE CELESTIAL POR PERMITIRME LLEGAR A ESTA ETAPA DE MI  
VIDA, POR QUE SIN SUS BENDICIONES NADA PUEDE SER POSIBLE "**

## AGRADECIMIENTOS

Con profundo agradecimiento a todos aquellos que estuvieron a mi lado y me brindaron su apoyo durante el curso de mis estudios, y en la realización de este trabajo.

Al Centro de Botánica del Colegio de Postgraduados, por las facilidades otorgadas, que me permitieron concluir esta Tesis.

Al Dr. Alfonso Larqué Saavedra, por su atinada dirección, por su confianza y estímulo, y por la oportunidad de permitirme ser parte de su equipo de trabajo.

Al M.C. Tomás Nava Sánchez, por su continuo apoyo, y sus acertadas sugerencias y consejos.

Al Biol. Rubén San Miguel Chávez, por su ayuda y sugerencias en el desarrollo y revisión del trabajo, por su apoyo y amistad.

A la M.C. A. Marisa Osuna Fernández, por su disposición, sus acertadas sugerencias y el tiempo brindado en la revisión de este trabajo.

Al M.C. Jaime Jiménez Ramírez, por su disposición en la revisión del trabajo.

A los Biólogos Mario Gutiérrez, Estela Ortiz y Edmundo Bucio y al Sr. Agustín Rodríguez por su ayuda y amistad.

Al M.C. Manuel González Ledezma por su ayuda y las facilidades otorgadas.

Al Dr. Marcos Soto, a la M.C. M. Teresa Rodríguez y al Sr. J. Arturo Rodríguez, por el apoyo que me brindaron.

Al C.P. J. Antonio Coalla Cambolor por su ayuda desinteresada en el curso de mis estudios.

A mis amigos, Francisco Elizalde, Juan, Edgar, Carlos, Guadalupe, Alicia, Griselda y Tania, por su estímulo y gran amistad.

## DEDICATORIA

A mis Padres.

ATILANO SANCHEZ Y ANTONIA ESPINO

Por su cariño y paciencia, con todo mi amor y respeto.

A mis hermanos.

Por su apoyo y cariño, en especial a IRMA, OLIVIA y SILVIA por estar siempre a mi lado.

A todos mis sobrinos.

Por la esperanza de su superación, en especial para  
A. IVONNE y S. GUADALUPE.

A mis amigos ALBERTO HERNANDEZ y M. IGNACIO DELGADO, por la amistad que incondicionalmente he recibido.

A TOMAS NAVA, por su paciencia y por mantenerse siempre a mi lado brindandome su amistad desinteresada, por ser un estímulo en mi superación.

# C O N T E N I D O

|   | Página |
|---|--------|
| 0. RESUMEN - - - - -  | i      |
| I. INTRODUCCION - - - - -   | 1      |
| II. ANTECEDENTES - - - - -  | 3      |
| 2.1. Historia del bióxido de carbono en la Tierra - -   | 3      |
| 2.2. Química del bióxido de carbono - - - - -   | 4      |
| 2.2.1. Propiedades Físicas y Químicas - - - - -   | 5      |
| 2.2.2. Estado natural - - - - -   | 6      |
| 2.2.3. Aplicaciones - - - - -   | 7      |
| 2.3. El papel del bióxido de carbono en la fotosínte--<br>sis - - - - -   | 7      |
| 2.3.1. El Ciclo de Calvin - - - - -   | 8      |
| 2.3.2. Eficiencia de la fijación de CO <sub>2</sub> en las<br>plantas C <sub>3</sub> , C <sub>4</sub> y CAM - - - - - | 11     |
| 2.4. El aumento del nivel de bióxido de carbono<br>atmosférico y sus consecuencias en el ambiente -                   | 17     |
| 2.5. Consecuencias del cambio climático global - - - -  | 22     |
| 2.5.1. Factores ambientales limitantes del creci-<br>miento vegetal - - - - -   | 24     |
| 2.6. Técnicas para medir la absorción del bióxido de<br>carbono - - - - -   | 26     |
| 2.7. Ubicación y descripción taxonómica de <i>Lepidium</i><br>sativum L. - - - - -                                    | 28     |
| 2.8. Las botellas desechables como Modelo Experimental  | 29     |
| III. OBJETIVOS - - - - -  | 32     |
| IV. MATERIALES Y METODOS - - - - -  | 33     |
| 4.1. Localización - - - - -   | 33     |
| 4.2. Material Biológico - - - - -   | 33     |

|   |    |
|---|----|
| 4.3. Desarrollo de la metodología para simular niveles elevados de CO <sub>2</sub>              | 33 |
| 4.4. Siembra  | 35 |
| 4.5. Diseño experimental  | 37 |
| 4.5.1. Elaboración de la solución de Hoagland   | 38 |
| 4.5.2. Tratamientos   | 39 |
| 4.6. Variables  | 42 |
| 4.7. Determinación de biomasa   | 42 |
| 4.8. Análisis estadístico   | 43 |
| V. RESULTADOS   | 44 |
| 5.1. Las biobotellas como sistema experimental  | 44 |
| 5.2. Respuesta de la germinación de <i>Lepidium sativum</i> L. a incrementos de CO <sub>2</sub> | 44 |
| 5.3. EXPERIMENTO EN AGROLITA  | 45 |
| 5.3.1. Peso fresco  | 45 |
| 5.3.2. Peso seco  | 46 |
| 5.3.3. Determinación de la longitud de las plántulas de <i>L. sativum</i> .                     | 49 |
| 5.4. EXPERIMENTO EN VERMICULITA   | 52 |
| 5.4.1. Peso fresco  | 52 |
| 5.4.2. Peso seco  | 52 |
| 5.4.3. Determinación de la longitud de las plántulas de <i>L. sativum</i> .                     | 53 |
| VI. DISCUSION   | 56 |
| VII CONCLUSIONES  | 63 |
| VIII. LITERATURA CITADA   | 64 |



## R E S U M E N

Anualmente la concentración de bióxido de carbono atmosférico se esta incrementando entre 0.5 y 2%, estos incrementos engloban aspectos importantes en cuanto al efecto que pudiera tener un nivel elevado de bióxido de carbono sobre la productividad de la vegetación, lo que ha llevado a la realización de numerosos estudios acerca de la respuesta de las plantas a concentraciones de  $\text{CO}_2$  por encima de la atmosférica actual. El costo del material utilizado para este tipo de estudios llega a ser alto. En esta investigación se evaluó el efecto de niveles elevados de bióxido de carbono sobre algunos parámetros de crecimiento (peso fresco, peso seco, así como la longitud del vástago y de las raíces) de *Lepidium sativum* L..

Para la realización de este trabajo se utilizó material de desecho (botellas de plástico), las cuales representan una vía de muy bajo costo, y además permiten la implementación de un sistema sencillo para el control de diferentes concentraciones de bióxido de carbono. Se llevaron a cabo dos experimentos independientes, uno en agrolita y otro en vermiculita, estableciendo tres concentraciones para cada experimento, 360, 620, y 920 ppm, el registro sistemático de estas concentraciones se llevó a cabo con un analizador de gases en infrarrojo (IRGA). Los resultados obtenidos, indican que las diferentes concentraciones de bióxido de carbono probadas afectan directamente el crecimiento de las plantas estudiadas promoviendo la acumulación de peso seco, en un

62 y 67% a 620 y 920 ppm respectivamente en el caso de agrolita, mientras que en vermiculita el incremento fue de 15% a 620 ppm, y de 41% a 920 ppm; y los incrementos en la longitud de las raíces fueron, en vermiculita a 620 ppm 153%, y de 123% a 920 ppm, en el caso de la agrolita este incremento fue sólo de 19% a 920 ppm, y de 74% a 620 ppm; el incremento en la longitud del tallo fue en agrolita de 25% con la concentración de 620 ppm, y de 20% en 920 ppm, en vermiculita el incremento sólo ocurrió en la concentración de 920 ppm, siendo éste de 19%. Se observó un mejor desarrollo en las plantas que estuvieron en vermiculita que en agrolita. El uso de las botellas de plástico desechable permitió mantener el experimento de atmósfera controlada, por lo que además del bajo costo que representan, son útiles para la realización de este tipo de estudios relacionados con la comprensión de algunos aspectos fisiológicos en las plantas.

## I. INTRODUCCION

El clima no sólo es un medio de intercambios físicos, sino también de intercambios químicos y biológicos en el que los organismos tienen un papel de suma importancia. La vegetación continental controla en gran medida los intercambios de energía y de agua que se dan entre el suelo y la atmósfera. Por su parte, los seres vivos, mediante los procesos de respiración y fotosíntesis, influyen fuertemente en el nivel del bióxido de carbono atmosférico, otro de los factores que influyen sobre la estabilización de la concentración atmosférica de  $\text{CO}_2$  es, el agua de los mares y océanos, que representa una reserva inmensa de bióxido de carbono en formas muy diversas (Le Treut y Kandel, 1992; Devlin, 1980).

Por otro lado, el bióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), es la fuente principal de carbono que sirve de alimento primario a las plantas y a partir del cual, por medio del proceso de fotosíntesis, se forman compuestos orgánicos como: carbohidratos, azúcares y almidón. Aunque existen varios factores ambientales que influyen en la productividad de las plantas terrestres, tales como: la luz, temperatura, humedad y la concentración de oxígeno, quizá el más importante es la cantidad de  $\text{CO}_2$ .

El índice de penetración de este gas en el interior de la hoja de la planta, y la subsecuente fijación fotosintética del material orgánico, esta enormemente influenciada por el gradiente

de concentración de  $\text{CO}_2$  que existe entre la atmósfera y las células de la hoja. Las plantas pueden vivir en una atmósfera con mayor proporción de  $\text{CO}_2$  de la que normalmente existe; al aumentar el  $\text{CO}_2$  en general las plantas pueden sintetizar mayor cantidad de azúcares (Rojas, 1993; Enoch, 1988).

Existe un gran número de estudios sobre la respuesta de las plantas a concentraciones de bióxido de carbono por encima de la concentración atmosférica actual (350 ppm). Sin embargo dado el alto costo de equipo sofisticado para mantener altas concentraciones de  $\text{CO}_2$ , es difícil realizar experimentos en estas condiciones (Ashenden et al., 1992).

Este trabajo forma parte de una de las líneas de investigación que se están llevando a cabo en el Laboratorio de Fisiología Vegetal del Centro de Botánica del Colegio de Postgraduados, el cual comprende el estudio de fotosíntesis y bioproduktividad.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1 Historia del bióxido de carbono en la Tierra.

El papel moderador del bióxido de carbono sobre el clima es una de las claves de la evolución de nuestro planeta y de su habitabilidad por formas de vida desde hace 3500 millones de años (Courtin et al., 1992).

Desde el principio de la historia de la vida en la Tierra, había mucho más  $\text{CO}_2$  en la atmósfera de lo que existe hoy en día, las concentraciones de oxígeno eran muy pobres o éste se encontraba ausente en su forma libre (Dickerson, 1978), esos niveles más elevados de  $\text{CO}_2$  fomentaron la vida. La vegetación en las distintas eras geológicas fue exuberante y creció abundantemente sobre áreas extensas (Institute for Biospheric Research, 1991).

Por 4 mil millones de años la Tierra ha tenido una superficie sólida de rocas. De acuerdo con Margulis (1981), los fósiles más viejos (organismos fotosintéticos unicelulares parecidos a las cianobacterias) existieron hace 3500 millones de años. Los organismos multicelulares aparecieron hace sólo 600 millones de años y consecuentemente, los fósiles más grandes pueden ser encontrados en rocas pertenecientes a períodos posteriores. Durante la llamada Era Azoica, los organismos unicelulares fueron la única forma de vida; citando las palabras de Margulis, "los microbios tuvieron en su desarrollo las mayores adaptaciones

biológicas: diversas formas de transformación de la energía y estrategias alimenticias, movimientos, sensibilidad, sexo y también cooperatividad y competencia". Pero no sólo tuvieron lugar cambios internos en los organismos, esas formas de vida cambiaron en gran manera el ambiente físico de la Tierra modificando la composición atmosférica y por otro lado la temperatura de la superficie (Enoch, 1988).

De acuerdo con Lovelock (1979) (citado en Enoch, 1988), la atmósfera contenía 99% de  $\text{CO}_2$ , cuando en la Tierra no existía vida (ésto es, no había microbios fotosintetizadores ni plantas), y había un equilibrio termodinámico. El  $\text{CO}_2$  es un buen absorbente de radiaciones de onda larga (radiaciones infrarrojas). Con la energía que proviene del sol, una atmósfera con  $\text{CO}_2$  podría retener el calor irradiado y mantener una temperatura media en la superficie de la Tierra alrededor de  $290 \pm 50$  °C en lugar de los 15 °C que existen en la actualidad. Se cree que la concentración de bióxido de carbono atmosférico global disminuyó por la acción de los microbios fotosintetizadores que aumentaron la concentración del oxígeno de la atmósfera (Enoch, 1988).

## 2.2 Química del bióxido de carbono.

El bióxido de carbono o anhídrido carbónico ha sido conocido desde hace siglos, los primeros escritores lo confundían con el "aire". A principios del siglo XVII, Van Helmont (1577-1644) estudió este fluido y fue el primero que lo distinguió del aire

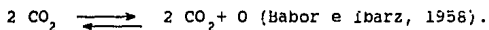
ordinario, lo llamó "gas" (del holandés ghoast= espíritu), éste escritor demostró que se produce en el curso de la fermentación y durante la combustión de la materia orgánica, reconociendolo también en las aguas minerales. Black en 1755, encontró que formaba parte de los álcalis fijos (carbonatos alcalinos) y lo llamó "aire fijo". Lavoisier lo identificó y le dió el nombre que lleva actualmente. Su composición fue determinada por Dumas y Stas (Babor e Ibarz, 1958).

#### 2.2.1 Propiedades físicas y químicas.

Actualmente el bióxido de carbono se conoce como un gas incoloro, inodoro e incombustible de sabor ligeramente ácido y más pesado que el aire. Este gas no es tóxico en proporciones bajas, pero si lo es en altas concentraciones. Los seres humanos pierden el sentido cuando quedan expuestos por unos minutos a una atmósfera que contenga 10% de  $\text{CO}_2$ . El bióxido de carbono no es venenoso; sus efectos nocivos cuando está muy concentrado provienen de la asfixia (falta de oxígeno). Tiene una temperatura crítica de  $31.3^\circ\text{C}$ , ésto quiere decir que por encima de esta temperatura el bióxido de carbono no puede licuarse por mucha presión que se ejerza sobre él, pero a la temperatura ordinaria si puede licuarse y conservarse líquido en tubos resistentes de acero. El anhídrido carbónico se solidifica fácilmente; la "nieve carbónica" se sublima a  $-79^\circ\text{C}$  a la presión atmosférica y se emplea comercialmente como refrigerante para alimentos y helados, en

especial durante su transporte (Touren, 1980). Se suele llamar "hielo seco", porque no deja residuo líquido, a diferencia del agua congelada. Es soluble en agua, formando ácido carbónico:

$\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3$ . La cantidad de gas disuelta en un volumen dado de agua a una determinada temperatura varía con la presión parcial del gas (ley de Henry). El agua de sifón, agua de Seltz ó de Vichy, ó agua carbónica, es una disolución acuosa del gas a 3-4 atmósferas de presión. El  $\text{CO}_2$  es una sustancia estable, y su disociación a  $2000^\circ\text{C}$  es únicamente del 1.8% :



#### 2.2.2 Estado natural.

El  $\text{CO}_2$  existe en la atmósfera, procedente de las combustiones, de la respiración y de las fermentaciones. El aire contiene 0.03% de este gas. El gas libre se encuentra en los manantiales de aguas efervescentes (Vichy en Francia, y Geysers en Saratoga E.U.A). En algunas localidades surge de las grietas del terreno y se acumula en el fondo de las depresiones, produciendo una atmósfera mortífera para los organismos aerobios. Tal fenómeno ocurre en el Valle de la Muerte de Java, y en la Gruta del Perro, cerca de Nápoles en Italia. También en México y en el Oeste de los Estados Unidos hay manantiales de gases de los que el bióxido de carbono escapa a gran presión. Algunos de ellos se utilizan como base de obtención de esta sustancia para fines comerciales (Babor e Ibarz, 1958; Christen, 1977).



### 2.2.3 Aplicaciones.

El  $\text{CO}_2$  se usa para preparar bebidas efervescentes, se consume en grandes cantidades para fabricar bicarbonato sódico (sosa de panaderos),  $\text{NaHCO}_3$  y carbonato sódico (sosa de lavar y cristal sosa)  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ . Se utiliza también como extinguidor de incendios (Touren, 1980).

### 2.3 El papel del bióxido de carbono en la fotosíntesis.

En el proceso de la fotosíntesis las plantas verdes intercambian bióxido de carbono y oxígeno con la atmósfera que las rodea. Las hojas de estos organismos autótrofos incorporan carbono del  $\text{CO}_2$  atmosférico y fijan energía de la radiación solar. Parte de esa energía es utilizada para dividir las moléculas de agua, absorbida por las plantas a través de sus raíces, en  $\text{O}_2$  e  $\text{H}^+$ . El primero, se desprende hacia la atmósfera y el  $\text{H}^+$  es usado como poder reductor, que junto con el carbón es utilizado para formar material orgánico. El crecimiento, desarrollo y producción de las plantas son influenciados por la interacción entre la concentración de  $\text{CO}_2$  atmosférico y las hojas. Los heterótrofos aeróbicos, por otra parte, emplean el oxígeno para degradar los productos orgánicos ricos en energía procedentes de la fotosíntesis hasta  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ , a fin de producir ATP para su propio metabolismo. El bióxido de carbono producido en la respiración de los organismos heterótrofos vuelve a la atmósfera y se emplea de nuevo en los organismos fotosintéticos. La energía

solar es la que provee de la fuerza impulsora para efectuar el ciclo continuo de bióxido de carbono atmosférico y del oxígeno a través de la biósfera (Lehninger, 1979) (Fig. 1). La cantidad de  $\text{CO}_2$  en la atmósfera está regulada por los intercambios, más o menos rápidos entre los diversos reservorios naturales de carbono: los océanos, la biosfera y la atmósfera (Lambert, 1992). El ciclo oceánico del carbono es muy complejo ya que el elemento está presente en cuatro formas disueltas: gas  $\text{CO}_2$ , bicarbonato  $\text{HCO}_3^-$ , carbonato  $\text{CO}_3^{2-}$  y complejos orgánicos. En la práctica, el bicarbonato domina, con aproximadamente un 90% (esta proporción varía poco), mientras que los carbonatos forman del 5 al 10% y el gas disuelto el 1%. En cuanto a la cuarta forma, se produce a causa de la actividad biológica de la superficie, pero sigue siendo poco conocida (Minster y Merlivat, 1992).

### 2.3.1 El ciclo de Calvin.

Calvin y sus colaboradores llevaron a cabo notables investigaciones centradas en la localización e identificación de las sustancias intermedias que intervienen en la asimilación del  $\text{CO}_2$  en la fotosíntesis (Lehninger, 1979). Propusieron un mecanismo cíclico complejo para la biosíntesis completa de los seis átomos de carbono de la glucosa a partir del bióxido de carbono. En el ciclo de Calvin, una molécula de 1,5-ribulosa difosfato se utiliza por cada molécula de  $\text{CO}_2$  que se ha fijado, pero al fin del ciclo se regenera una molécula de ribulosa difosfato (Lehninger, 1979).

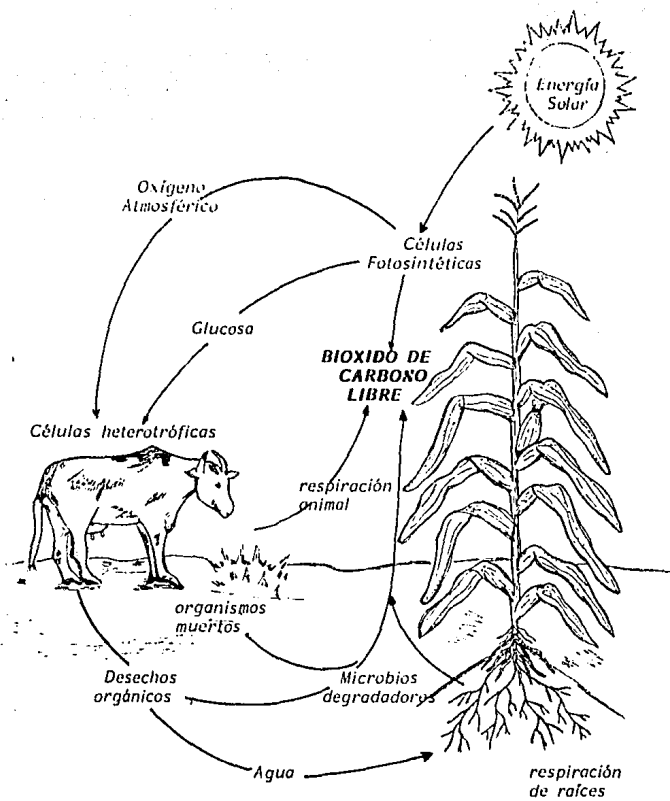
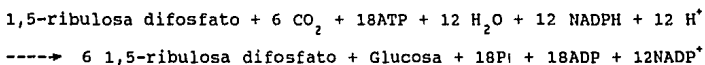
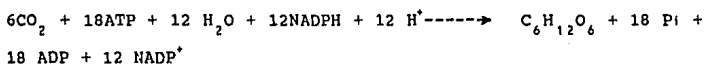


Fig. 1. Ciclo del carbono. Figura modificada del original (Sánchez y Lima, 1986).

Una forma condensada de la ecuación global de este ciclo complejo es:



La molécula 1,5-ribulosa difosfato está escrita a ambos lados de la reacción para mostrar que es un componente necesario que se regenera al final de cada ciclo. Después de anular la ribulosa difosfato de ambos miembros, la ecuación neta de Calvin queda:



Aunque el ciclo de Calvin, es definitivamente la vía principal de fijación de  $\text{CO}_2$ , no es la única. En 1970, Hatch y Slack descubrieron que ciertas plantas también podían fijar  $\text{CO}_2$  por una ruta diferente, a esta nueva ruta se le llamó "la vía de Hatch-Slack" o "la vía de 4 carbonos ( $\text{C}_4$ )", esta vía aumenta la eficiencia de la fijación de  $\text{CO}_2$  en las regiones de alta radiación solar, temperaturas altas y un limitado abastecimiento de agua. A plena luz del día, las hojas de las plantas  $\text{C}_4$  por lo general fijan  $\text{CO}_2$  en una tasa mayor de la que presentan las plantas que usan solamente la vía  $\text{C}_3$  (Bohinski, 1987). Esto es por un lado, debido a que las plantas  $\text{C}_4$  muestran un punto de compensación de  $\text{CO}_2$  bajo y, a diferencia de las plantas  $\text{C}_3$ , no pierden una

proporción del carbono fijado durante la fotosíntesis en el proceso de la fotorrespiración, ya que el ciclo  $C_4$  actúa como una bomba que mantiene la concentración de  $CO_2$ ; y por otro lado, debido a que el punto de fotosaturación de las plantas  $C_4$  es más alto que en las plantas  $C_3$  (Foyer, 1987).

### 2.3.2 Eficiencia de la fijación de $CO_2$ en las plantas $C_3$ , $C_4$ y CAM.

En el Reino vegetal existen tres grupos de plantas llamadas "plantas  $C_3$ ,  $C_4$  y CAM", las cuales difieren en su metabolismo por la forma de captar el bióxido de carbono atmosférico, (Figs. 2 y 3) las plantas  $C_4$  crecen más rápido y elaboran más biomasa por unidad de área foliar que las plantas  $C_3$  (Lenhinger, 1979). En las primeras, la mayoría de las cuales son de origen tropical (maíz, sorgo, mijo, caña de azúcar, etc.), su tasa fotosintética es casi máxima para el nivel actual de  $CO_2$  y prácticamente ya no aumenta. Pero en las segundas, que incluyen varias plantas cultivadas (trigo, arroz, remolacha, papa, tabaco, etc.), la fotosíntesis aumenta con el nivel de  $CO_2$  (Fig. 4). Evidencias paleontológicas atestiguan la existencia de las plantas  $C_4$  al final de la Era Terciaria; dichas plantas estaban entonces adaptadas a concentraciones de  $CO_2$  un tercio inferiores a las actuales (200 ppm es decir en un 0.02%).

El carácter  $C_4$  también ha evolucionado en otras plantas como las quenopodiáceas (la hierba rastreadora, el pasto de las

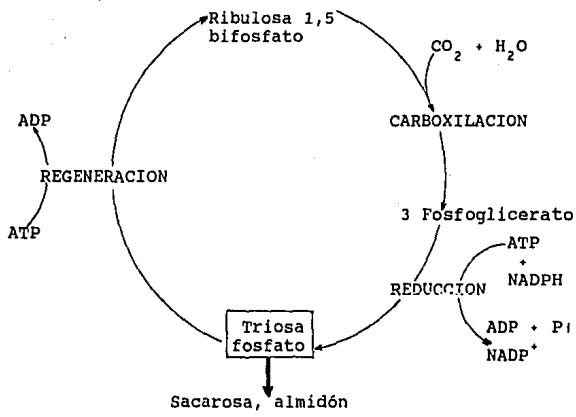


Figura 2. Ciclo de reducción del carbono fotosintético en las plantas C<sub>3</sub>. Se realiza en tres estados: 1) Carboxilación, durante la cual el CO<sub>2</sub> es enlazado covalentemente a un esqueleto de carbono; 2) Reducción, durante el cual se forman carbohidratos a expensas de derivados fotoquímicos ATP y NADPH; y 3) Regeneración, durante la cual la molécula aceptora de CO<sub>2</sub> Ribulosa 1,5 bifosfato es reformada (Taiz y Zeiger, 1991).

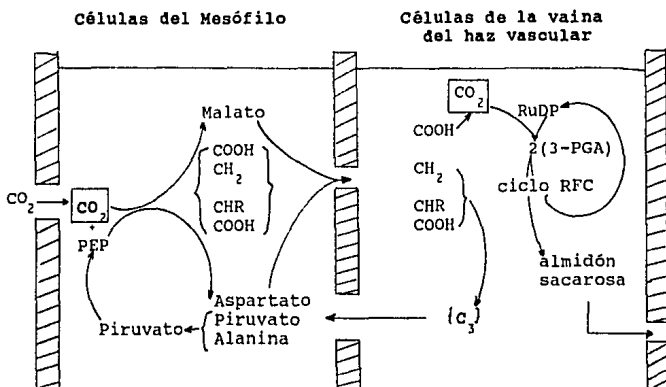


Figura 3. División del ciclo de las plantas  $\text{C}_4$ , que muestra la fase de carboxilación en las células del mesófilo y la fase de descarboxilación, y el ciclo de reducción fotosintética del carbono (RFC), el ciclo de Calvin, en la células de la vaina del haz vascular (Foyer, 1987).

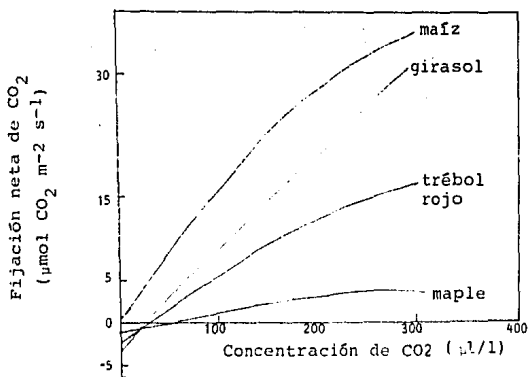


Fig. 4 Influencia de las concentraciones de CO<sub>2</sub> sobre la tasa de fotosíntesis en plantas C<sub>4</sub> (maíz) y C<sub>3</sub> (girasol, trébol rojo y maple) (Salisbury y Ross, 1992).



Bermudas, etc.) que viven en medios secos o salados. Sin embargo no existen árboles  $C_4$ . A causa de la concentración de  $CO_2$  que se establece en las células más internas de la hoja, las plantas  $C_4$  pueden mantener sus estomas cerrados unas dos veces más que las plantas  $C_3$  para una misma tasa de  $CO_2$  fijado. Esto les permite duplicar la eficiencia en el uso del agua (EUA) (Minster y Merlivat, 1992). Las plantas que presentan el metabolismo  $C_4$  tienen dos tipos diferentes de células que cooperan en la fijación neta del  $CO_2$ , estos dos tipos celulares -células de la vaina del haz vascular y las células del mesófilo- que están arregladas en forma radial (Anatomía KRANZ), son fundamentales, para que opere la ruta  $C_4$  y para que se lleve a cabo un transporte rápido de metabolitos entre los dos tipos celulares. Las células del mesófilo y de la vaina del haz vascular se distinguen por sus diferentes anatomías y actividades enzimáticas, asociadas con la asimilación del  $CO_2$ , el  $NO_3^-$ , y el  $SO_4^{2-}$  (Foyer, 1987).

Las plantas  $C_4$  no presentan fotorrespiración, proceso mediante el cual las plantas  $C_3$  consumen oxígeno en una vía diferente a la que existe en la respiración, mientras están efectuando la fotosíntesis, y este proceso es favorecido por la luz, y en él quedan involucrados tres organelos: cloroplastos, mitocondrias, y peroxisomas. Este proceso justifica el aumento de la eficiencia de la fijación de  $CO_2$  en plantas  $C_4$ . Los investigadores han intentado hibridizarlas con plantas  $C_3$ , a fin de aumentar la eficiencia de crecimiento de las últimas en climas

donde las plantas con características  $C_3$  son difíciles de crecer, es decir donde hay mucho sol y abastecimiento de agua limitado ya que en estas condiciones las plantas  $C_3$  sufren debido a la fotorrespiración y a la pérdida de agua por medio de la transpiración (Bohinski, 1987; Foyer, 1987). Por otro lado se propone que un aumento del nivel de  $CO_2$  podría reducir la diferencia de la EUA entre plantas  $C_3$  y  $C_4$ ; con la duplicación de este nivel, la EUA aumentaría en un 70% en las primeras y un 35% en las segundas (Minster y Merlivat, 1992).

Las plantas crasuláceas pertenecen al grupo de plantas que presentan características metabólicas específicas que poseen Metabolismo Acido (CAM). Estas especies que en gran parte son suculentas, tienen también un ciclo  $C_4$  basado en la formación del malato y ácido aspartico en una reacción catalizada por la enzima fosfoenolpiruvato carboxilasa presente en el citosol de las células del mesófilo, y llevada a cabo en la obscuridad; el malato o aspartato se acumula en las vacuolas de las células de la hoja.

Los estomas son sensores ideales de niveles de  $CO_2$  que se abren y cierran dependiendo de la disponibilidad de este gas (Larqué y Trejo, 1990). Ante la luz, los estomas se cierran y el  $CO_2$  es liberado internamente del malato junto con poder reductor en forma de NADPH, este  $CO_2$  se fija de nuevo, ahora por la Rubisco de los cloroplastos de las células de la vaina del haz vascular, formandose triosas fosfato en el ciclo de Calvin (Coombs et al., 1988).

#### 2.4 El aumento del nivel de bióxido de carbono atmosférico y sus consecuencias en el ambiente.

Actualmente se asegura que desde principios de la Era Industrial la composición química de la atmósfera se ha modificado significativamente, especialmente el contenido de bióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y metano ( $\text{CH}_4$ ) que favorecen el establecimiento del efecto invernadero. Actualmente dichos gases están presentes en concentraciones más elevadas, a la vez han hecho aparición otros como los Clorofluorocarbonos (CFC), óxidos de nitrógeno, ozono atmosférico, y vapor de agua que también absorben la radiación infrarroja (Le Treut y Kandel, 1992). El efecto invernadero se basa en los mismos principios de los invernaderos hortícolas, hechos de cristal o de láminas de plástico que permiten el paso de la radiación luminosa visible que transporta gran parte de la energía solar y absorben las radiaciones infrarrojas de gran longitud de onda devueltas por la superficie del suelo, impidiéndoles así escapar hacia el espacio (Courtin et al., 1992).

Las concentraciones de los diferentes gases en la atmósfera dependen de un delicado equilibrio entre las emisiones, el tiempo de residencia en la atmósfera y la absorción de los mismos dentro de la biósfera. En condiciones naturales las emisiones netas de  $\text{CO}_2$  a la atmósfera son aproximadamente de cero, es decir, existe un equilibrio entre las emisiones de  $\text{CO}_2$  en procesos como la respiración de los organismos vivos, la descomposición de materia orgánica en los suelos y otros procesos biológicos, químicos y

geológicos y su absorción por las plantas a través de la fotosíntesis, y en los océanos (mediante la conversión de  $\text{CO}_2$  a ácido carbónico), así como en otros procesos como se señala en la figura 1.

A partir de la Revolución Industrial, el hombre ha perturbado activamente estos ciclos naturales. Durante los últimos cien años las emisiones de carácter antropogénico han crecido en forma exponencial. En poco más de 200 años se ha añadido a la atmósfera tanto  $\text{CO}_2$  como para aumentar su concentración en 28% (de 275 a 353 ppm.) (Le Treut y Kandel, 1992; Lambert, 1992; Masera, 1991; Institute for Biospheric Research, 1991).

Aunque hasta el momento no es posible asegurar que el hombre esté provocando un cambio climático global, los climatólogos lanzan serias advertencias al respecto. Por ejemplo, proponen que al quemar combustibles fósiles, destruir los bosques y desarrollar industrias contaminantes, el hombre esta degradando peligrosamente la atmósfera, y que los "gases de efecto invernadero" serán tan abundantes que afectarán la regulación térmica del planeta (Thuiller, 1992). El equivalente de la duplicación del índice de  $\text{CO}_2$  se alcanzaría durante el siglo próximo, dependiendo el momento exacto de las medidas que se tomen para frenar ó impedir las emisiones de gases que provocan el efecto invernadero.

Los modelos de simulación del clima mundial conocidos como Modelos de Circulación General, (GCM) predicen un aumento en la temperatura entre 1.5 y 4.5 °C como resultado de una duplicación

en la concentración de bióxido de carbono (Minster y Merlivat, 1992; Le Treut y Kandel, 1992; Masera, 1991; Allen, 1989). La mayoría de los modeladores del clima estiman que cada duplicación de CO<sub>2</sub> atmosférico aumentará la temperatura media de la superficie de la Tierra, aproximadamente en 2.3 : 1.6 °C (Clark et al., 1982, citado en Enoch, 1988).

En contraste con las predicciones pesimistas del calentamiento global, se estima que los efectos de elevadas concentraciones de CO<sub>2</sub> afectarán positivamente la productividad de las plantas y de los cultivos de un 30 a un 40%, duplicando la eficiencia del uso de agua en la mayor parte de la vegetación terrestre y posiblemente triplicando la productividad de los bosques (Institute for Biospheric Research, 1991). Aunque Bazzas y Fajer (1992), señalan que lo anterior solamente puede ocurrir en presencia de nutrientes suficientes y sin limitación de agua.

Durante la última década se han publicado varios trabajos resumiendo modelos climáticos y evaluaciones de las respuestas de las plantas al incremento de niveles de bióxido de carbono atmosférico. Minster y Merlivat, 1992 señalan que, desde los trabajos de los norteamericanos Wittwer y Robb en 1964, se utiliza a menudo el enriquecimiento de los invernaderos con CO<sub>2</sub> para incrementar el rendimiento de los cultivos de varias especies de plantas. El efecto fisiológico inicial de un nivel más elevado de gas carbónico es la estimulación de la cantidad de CO<sub>2</sub> asimilada por las plantas. También parece que el nivel basal de la

respiración, calculado respecto a la biomasa, se reduce. Esta modificación, cuyo origen exacto se desconoce, no interviene en los órganos ricos en  $\text{CO}_2$ , como los frutos, los tallos y las raíces, y sólo afecta a las hojas.

En general las plantas muestran un incremento en las tasas de fotosíntesis a nivel de hoja y a nivel del dosel cuando crecen en concentraciones elevadas de bióxido de carbono (Valle et al., 1985, citado en Allen 1989; Jones et al., 1985), no obstante se ha reportado que algunas veces la tasa de fotosíntesis se reduce cuando las plantas se exponen a concentraciones elevadas de bióxido de carbono durante intervalos prolongados (Oechel y Strain, 1985; Tissue y Oechel, 1987; Peet et al., 1986, citados en Allen, 1989). La causa probable de la reducción en la tasa de fotosíntesis después de exposiciones prolongadas de  $\text{CO}_2$  es un exceso de producción de fotosintatos en las hojas con respecto a la asimilación por las plantas (Bisbal, 1987; Baker et al., 1989, en Allen, 1989). Strain et al., 1989, citado en Enoch, 1988, hacen referencia de cerca de 800 escritos sobre efectos directos del bióxido de carbono en plantas y comunidades de las mismas. Kimball (1986) analiza 770 experimentos de enriquecimiento de  $\text{CO}_2$ , y observa que una duplicación del  $\text{CO}_2$  incrementa la producción de algodón en un 104%, en cultivos de frutas 11%, en granos  $\text{C}_3$  15%, en legumbres 17%, en cultivos de raíces y tubérculos 49%, en plantas leñosas 40%, y en materia seca de algunas especies  $\text{C}_4$  11%. En 1980 Baker y Lambert (citados en Enoch, 1988) obtuvieron

resultados similares. Zelitch (1982), muestra que la producción de cultivos esta estrechamente relacionada con la asimilación fotosintética neta de  $\text{CO}_2$ . Refiriéndose al grupo de plantas  $\text{C}_3$  no adaptadas totalmente a la combinación de oxígeno y baja concentración de bióxido de carbono ambiental, este autor también menciona que de un 30 a un 50% de estas plantas muestran inhibición fotosintética causada por el 21% del  $\text{O}_2$  presente en la atmósfera. La inhibición de la fotosíntesis en plantas  $\text{C}_3$  es mitigada por los niveles elevados de  $\text{CO}_2$ . Por otra parte, las plantas  $\text{C}_4$ , que se cree que tienen evolución tardía, no muestran signos de inhibición con  $\text{O}_2$  (Zelitch, 1982). La asimilación de carbono en todas las plantas  $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_4$  y CAM sujetas a una atmósfera con 21% de oxígeno se incrementa agregando bióxido de carbono por encima de los niveles del ambiente (340 ppm aproximadamente). Por lo tanto se puede decir que todas las plantas estan sujetas a un nivel de deficiencia de  $\text{CO}_2$ . Las plantas  $\text{C}_3$  parecen estar adaptadas a los aumentos de temperatura global causada por incrementos en la concentración del bióxido de carbono atmosférico. De acuerdo con Schlesinger (1983, citado en Enoch, 1988), la mayoría de los modelos climáticos relacionan una duplicación de  $\text{CO}_2$  atmosférico con un aumento de la temperatura global.

Incrementos en el crecimiento y desarrollo de las plantas superiores por influencia del contenido de  $\text{CO}_2$  atmosférico, han sido observados en diferentes plantas  $\text{C}_3$  y  $\text{C}_4$ , tales como rábano,

y trigo ( Sionit et al., 1981, 1982); maíz y otras plantas C<sub>4</sub> (Rogers et al., 1980 citado en Enoch 1988). Funsch et al. (1970) observó un incremento en el peso del tallo para *Pinus strobus* L. (pino blanco) . Estos son sólo algunos ejemplos que ilustran de forma general que el crecimiento y desarrollo de las plantas se ven modificados por incrementos en la concentración de bióxido de carbono atmosférico. Campbell, Allen y sus colegas en Gainesville, Florida (1988), han obtenido un efecto positivo sobre el crecimiento de la soya adaptada a una duplicación de CO<sub>2</sub>. Allen et al. (1987) usaron un modelo modificado de Michaelis-Menten para expresar las tasas fotosintéticas relativas, producción de biomasa y producción de semillas de soya como función de la concentración de bióxido de carbono; durante varios años realizaron medidas en varias localidades. Ellos predicen que una duplicación de CO<sub>2</sub> causará un incremento del 32% en la producción de semillas de soya. Kimball (1983), apoya este modelo con 430 observaciones de enriquecimiento de CO<sub>2</sub> revisados y resumidos por él mismo.

## 2.5 Consecuencias del cambio climático global.

Entre los efectos más importantes como consecuencia de un aumento en la temperatura media superficial de la Tierra se cuentan:

- a) Cambios en los patrones de precipitación pluvial mundial, con diferencias significativas en el plano regional.
- b) Elevación en el nivel del mar de 0.2 a 1.5 metros, tanto



por la expansión térmica en los océanos como por el deshielo de glaciares en las montañas y de parte de la capa de hielo en Groenlandia.

- c) Cambios en la humedad del suelo, al aumentar la evaporación del agua.

Las consecuencias de estos tres fenómenos serían devastadoras. Los cambios en la precipitación y en la humedad del suelo repercutirían gravemente en la agricultura, en particular en la que depende de las lluvias de temporal (como la que se practica en la mayor parte de los países del Tercer Mundo). Las cosechas de cereales, por ejemplo, se verían afectadas seriamente, dando lugar a escasez y tensiones internacionales por la baja disponibilidad (y alto precio) de los alimentos. Los cambios en los patrones de precipitación y temperatura alterarían la distribución de la vegetación en todo el mundo (por ejemplo, los bosques se verían obligados a "migrar" en pocos años, siguiendo los nuevos patrones climáticos) con consecuencias impredecibles en la distribución de especies, productividad y capacidad de retención de bióxido de carbono. Las especies más sensibles probablemente desaparecerían del planeta (Masera, 1991).

Muchos de los países en desarrollo se encuentran geográficamente localizados en la franja tropical y entre los ecosistemas que los caracterizan se encuentran aquéllos que cuentan con gran diversidad de especies y un alto grado de complejidad. Es de esperarse que entre más complejo y diverso sea

un ecosistema, mayor será la probabilidad de que éste se vea afectado por los cambios en el clima, por ejemplo, algunos experimentos con atmósferas controladas, han mostrado que las interacciones insecto-planta se ven gravemente alteradas al aumentar la concentración del bióxido de carbono atmosférico. En comparación con otros países, la diversidad y endemismo, tanto de insectos como de plantas, en los bosques y selvas de México son sorprendentemente más altas (aproximadamente 30,000 especies de plantas vasculares y casi 2 millones de especies de insectos). En estos ecosistemas, las relaciones que guardan insectos y plantas son muy complejas, frágiles y seguramente sensibles al aumento de CO<sub>2</sub> (Gay et al., 1991).

#### 2.5.1 Factores ambientales limitantes del crecimiento vegetal.

Según Minster y Merlivat los biólogos recurren a menudo al concepto de "factor limitante", según el cual un sólo factor (por ejemplo, luz, temperatura, humedad etc.) puede restringir el crecimiento vegetal. El bióxido de carbono tiene en cambio, un efecto positivo sobre la materia seca vegetal producida si, además, las condiciones son favorables, como sucede en el caso de la agricultura intensiva, en la que se le proporciona a las plantas, abonos minerales, riego, etc. El problema esencial es el saber si éste efecto "fertilizante" persiste en condiciones naturales o en agriculturas poco intensivas, como las de los países en desarrollo, en las que el crecimiento vegetal es

limitado a menudo por numerosos factores: baja luminosidad, pobreza del suelo en sales minerales, alta o baja temperatura, parásitos (insectos, nemátodos, etc.), enfermedades debidas a hongos, bacterias y virus, predación por las especies fitófagas, competencia con otras plantas, etc. (Minster y Merlivat, 1992).

Para el proceso de fijación del gas carbónico en las plantas la luz es un factor indispensable que se utiliza más eficazmente cuando el nivel del  $\text{CO}_2$  aumenta (Mister y Merlivat, 1992), debido a que al haber una mayor concentración de bióxido de carbono mucha de la energía que no era utilizada con la concentración ambiental de dicho gas es aprovechada y el punto de fotosaturación de luz se alcanza a una mayor radiación fotosintética. En la mayoría de las especies de crecimiento rápido como cereales, especies forrajeras, etc., la intensidad de la radiación solar y el nivel de  $\text{CO}_2$  son inferiores a los óptimos, que permiten un rendimiento máximo de la producción vegetal, aunque estos autores señalan que éste no es el caso para las plantas de sombra como las del sotobosque. Algunos experimentos han demostrado que el crecimiento de las plantas es estimulado por el bióxido de carbono, no sólo cuando la luminosidad es intensa, sino también cuando es baja, al menos en algunas especies como el trigo, el arroz y el girasol (Minster y Merlivat, 1992).

La cantidad de sales minerales disponibles en el suelo es otro factor importante que influye en la fijación del  $\text{CO}_2$  por las plantas. La falta de algunas sales minerales, especialmente de

fósforo y potasio tiende a limitar el crecimiento vegetal. Las cantidades de potasio juegan un papel muy importante en la apertura y cierre de los estomas, ya que por su acumulación en las vacuolas de las células guardia controlan este mecanismo. Esto ocurre porque el potasio que esta fuera de las células entra a ellas provocando una disminución del potencial osmótico. En el caso del nitrógeno, hay mayor consenso, ya que este elemento permite un pequeño efecto positivo del  $\text{CO}_2$  sobre la fotosíntesis, incluso cuando hay sólo una pequeña cantidad en el medio. En estas condiciones existe acumulación de almidón, igualmente una disminución de la cantidad de la enzima Ribulosa 1,5 difosfato carboxilasa que cataliza la fijación del  $\text{CO}_2$ , la cual contiene hasta el 50% del nitrógeno de las hojas. Por otro lado, en diversos experimentos se han demostrado que los tejidos foliares contienen menos nitrógeno cuando las plantas crecen en presencia de un nivel elevado de  $\text{CO}_2$  que cuando se han cultivado con un nivel bajo de dicho gas (Minster y Merlivat, 1992).

#### 2.6 Técnicas para medir la absorción del bióxido de carbono.

Anteriormente los fisiólogos vegetales, medían la absorción de  $\text{CO}_2$  haciendo circular una corriente de aire por un recipiente cerrado donde se encontraba la planta, burbujeando después el aire "usado" que salía del recipiente a través de una solución alcalina de hidróxido de sodio (NaOH). La titulación de dicha solución revelaba la cantidad de  $\text{CO}_2$  disuelto en la solución, el cual

estaba en forma de ácido carbonico ( $H_2CO_3$ ). Esta medida podía compararse con la obtenida a partir del aire puro, con lo cual podía calcularse la cantidad de  $CO_2$  absorbida por la planta. Sin embargo, este procedimiento ha caído en desuso debido a la aparición de un método relativamente nuevo conocido como "absorción de la radiación infrarroja por el  $CO_2$ ". El analizador de gas en infrarrojo (IRGA) mide las concentraciones de  $CO_2$  presentes en una muestra de aire. Su popularidad se debe a la confiabilidad, precisión y simplicidad en las mediciones en comparación con las otras técnicas (Long y Hallgren, 1988). Este método aprovecha la capacidad del  $CO_2$  de absorber ciertas longitudes de onda correspondientes al infrarrojo, además presenta la ventaja de dar medidas instantaneas de la concentración de  $CO_2$  contenida en una corriente de aire (Devlin, 1980).

Este método se basa en los principios de las moléculas de gases heteroatómicas, incluyendo  $CO_2$ ,  $H_2O$ ,  $NH_3$ ,  $CO$ ,  $N_2O$ ,  $NO$  e hidrocarburos, que absorben radiaciones de bandas de ondas específicas, por lo tanto cada gas tiene un espectro de absorción característico. Las moléculas de gas, formadas por dos átomos iguales como  $O_2$  y  $N_2$  no absorben las radiaciones infrarrojas y, por lo tanto, no interfieren con la determinación de concentración de las moléculas heteroatómicas. La banda de absorción máxima de  $CO_2$ , es de una longitud de onda de 4.25 micrómetros con picos secundarios de 2.66, 2.77 y 14.99 micrómetros. El vapor de agua es el único gas heteroatómico que esta normalmente en el aire con un

espectro de absorción que se sobrepone con el de CO<sub>2</sub>, (ambas moléculas absorben infrarrojo en la región 2.7 micrómetros) (Long, 1982) por lo tanto la mayor parte de los equipos IRGA poseen un filtro, con el cual no se absorbe a la radiación de 2.7 nmetros. La tasa de CO<sub>2</sub> absorbida por una hoja puede medirse encerrando la hoja en una cámara, pasando aire sobre ella y midiendo el cambio en la concentración de CO<sub>2</sub> con el IRGA.

## 2.7 Ubicación y Descripción Taxonómica de *Lepidium sativum* L.

Reino: Vegetal  
Clase: Magnoliopsida (Dicotiledonea)  
Subclase: Dilleniidae  
Orden: Capparales  
Familia: Brassicaceae o Cruciferae  
Género: *Lepidium*  
Especie: *sativum*

(Cronquist, 1981).

*Lepidium sativum* L. es una planta anual, con tallo simple erecto de 20-40 cm glabra, hojas basales largamente pecioladas, dentadas, hojas caulinares superiores lineales enteras, sépalos de 1-1.5 mm, pétalos dos veces el largo de los sépalos, algunas veces rojizos, seis estambres, pedicelos de 3-4 mm en el fruto y flores pequeñas blancas. Silícula ampliamente elíptica, entera, estrechamente alada en el margen apical, glabra. El estilo no se

proyecta más allá de la endidura apical. Cotiledones profundamente trilobados. Es originaria de Egipto y Oeste de Asia, y naturalizada en gran parte de Europa, donde es cultivada (Flora Europea, 1964; Mabberley, 1981). *L. sativum* comunmente es llamada lentejilla o berro de tierras altas, es una planta con metabolismo  $C_3$ , con sabor picoso, se cultiva en ciclos cortos plantandolas en sucesiones rápidas para asegurar su suministro continuo ya que las plantas jóvenes se preparan en ensaladas, se desarrollan en camas como germinados con alta humedad y en temperaturas de 20 a 28°C con requerimientos de luz del día (Ware y McCollum, 1980).

## 2.8 Las botellas desechables como Modelo Experimental.

La búsqueda de sistemas apropiados para investigaciones sobre los efectos de concentraciones elevadas de bióxido de carbono en las plantas, ha llevado al desarrollo de un amplio espectro de sistemas cerrados con ambientes controlados, cámaras abiertas y sistemas empleados en el campo. Las ventajas y desventajas que presentan estos sistemas estan asociadas con los diferentes métodos de experimentación. Dependiendo del tipo de estudio que se desee realizar, debe seleccionarse un sistema que satisfaga los requerimientos de dicho estudio (Ashenden, et al., 1992). El costo de estos sistemas para suministrar las condiciones adecuadas llega a ser alto, sin embargo, se puede recurrir a cámaras de bajo costo. Lorenzo et al. (1990) y Ashenden et al. (1992), reportan

resultados de invernadero y campo respectivamente utilizando estructuras de bajo costo.

El uso de envases de plástico de bebidas gaseosas y otros contenedores desechables representan en Biología un nuevo método que se ha probado en docencia (Bottle Biology, 1991). La implementación de esta metodología, es útil en todos los niveles de enseñanza de la Biología.

El acercamiento de la juventud a la Ciencia es más fácil si ésta se vuelve diversión y entretenimiento. En las investigaciones profesionales a veces se recurre a cámaras costosas para encontrar las condiciones adecuadas para sus experimentos. Sin embargo, el uso de recipientes desechables ofrece una vía de bajo costo para llevar a cabo diversos experimentos y exploraciones dinámicas en la Ciencia de la vida, que conduzcan a un mejor entendimiento de los procesos biológicos. Los envases de plástico de bebidas, son fáciles de adquirir (millones se producen y se desechan diariamente), asimismo son fáciles de cortar y combinar en una amplia variedad de formas creando microambientes especiales para proyectos científicos. Algunas de las exploraciones científicas que se han estado realizando (Universidad de Birmingham en Inglaterra, Smith y Lock, 1992; Universidad de Wisconsin en los Estados Unidos, Fast Plant/Bottle Biology, 1992; en México, en el área de Fisiología Vegetal del Colegio de Postgraduados, datos no publicados) incluyen: la interacción entre ecosistemas, la dinámica de poblaciones, biodegradación, fermentación microbiana,



y diseños experimentales que permiten investigaciones relacionadas con Genética, Fisiología Vegetal y Ecología. Una red de científicos, educadores, estudiantes, padres de familia y personas interesadas han contribuido creando y estimulando ideas, las cuales estan siendo publicadas en documentos educativos (Bottle Biology, 1991).

En base a lo anterior se plantea el presente estudio bajo los siguientes:

### III. OBJETIVOS

- Determinar el efecto que tiene una atmósfera con alto nivel de  $\text{CO}_2$  sobre algunos parámetros de crecimiento en plantas de *Lepidium sativum* L.: peso fresco, peso seco, y longitud del vástago y de las raíces.
- Construir un sistema utilizando botellas de plástico desechable en el que se puedan controlar las concentraciones de bióxido de carbono sobre las plantas de *Lepidium sativum* L.
- Evaluar la agrolita y la vermiculita como substratos en el desarrollo de *Lepidium sativum* L.

## IV. MATERIALES Y METODOS

### 4.1 Localización.

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Fisiología Vegetal del Centro de Botánica, Colegio de Postgraduados, Montecillo Méx., localizado geográficamente a los 19° 29' de latitud Norte y 98° 53' de longitud Oeste, a una altitud de 2,250 m.s.n.m. (García, 1973).

### 4.2 Material Biológico.

Las semillas de *Lepidium sativum* L. utilizadas en el presente estudio fueron cosechadas en abril de 1985, y forman parte del germoplasma del Laboratorio de Fisiología Vegetal, Colegio de Postgraduados (Larqué y Rodríguez, 1993). Hasta la fecha de la siembra, las semillas se encontraban almacenadas en un frasco sujeto a refrigeración a una temperatura de 4°C y baja humedad relativa. Para evaluar la germinación de las semillas se hizo una prueba dos semanas antes del inicio del experimento, utilizando un lote de 50 semillas y se encontró, 72 horas después una germinación del 100%.

### 4.3 Desarrollo de la metodología para simular niveles elevados de CO<sub>2</sub>.

Para el desarrollo del trabajo se utilizaron 18 envases de plástico de bebidas gaseosas de 11 cm de diámetro y 29 cm de altura, con capacidad para 2 litros, comunmente llamadas "PET"

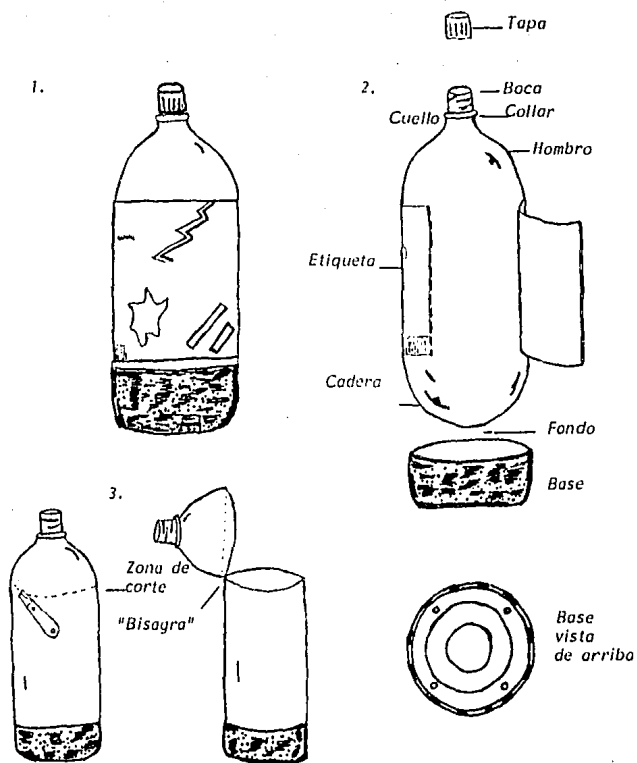


Fig. 5 Construcción de la cámara para atmósfera controlada con botellas desechables.

1. Botella de plástico de 2 litros de capacidad, (PET ó Zepelín).
2. Partes de que consta la botella.
3. Zona de corte para facilitar la siembra.

(Tereftarato de Polietileno) ó "Zepelines " (Fig. 5).

La preparación de las botellas consistió en lo siguiente:

- a) Se eliminaron las etiquetas de las botellas y se limpiaron perfectamente.
- b) Con una navaja se cortaron las botellas a lo largo de la línea del "hombro" (Fig. 5), dejando una pequeña "bisagra" a manera de unión entre las dos partes resultantes.
- c) En la parte de la base se hizo un pequeño orificio ( $\phi = 0.6$  cm) con un taladro para permitir el drenaje de agua.
- d) Teniendo las botellas cortadas de la manera descrita, se preparó en una cubeta de 20 l una solución de hipoclorito de sodio al 5% para lavarlas y desinfectarlas, enjuagandose posteriormente con agua destilada de tres a cinco veces.
- e) Para tapar las botellas se utilizaron tapones de hule del No. 3 a los que se les hizo una perforación ( $\phi = 0.6$  cm) con un sacabocados, en dicha perforación se colocó un tubo de vidrio con un trozo de manguera de hule látex de 0.7 cms. de diámetro, la parte superior de la manguera se dobló y se selló con cinta "masking tape", cerciorandose que estuviera bien sellado, para lo cual se utilizó un detector de fugas de aire snoop (detergente).

#### 4.4 Siembra.

La siembra se realizó los días 15 y 16 de diciembre de

1992, manteniendo las plantas durante cuatro semanas en condiciones de invernadero.

Se utilizó agrolita y vermiculita como sustrato y soporte inerte (previamente esterilizado durante una hora en un autoclave Wisconsin Aluminium Foundry Co. Modelo 1925x), ya que en pruebas preliminares el sustrato con material orgánico (suelo) no permitió llevar un control adecuado sobre los niveles de bióxido de carbono deseados, por la actividad de los microorganismos en el suelo. La agrolita, conocida también como perlita, es un aluminosilicato, que retiene el agua solamente sobre la superficie irregular de sus partículas, es un sustrato estéril, con un pH de 7 a 7.5, es químicamente inerte y no tiene capacidad de intercambio catiónico, es muy polvosa cuando esta seca, se mezcla fácilmente con el suelo cuando se humedece con agua para controlar el polvo; ésta tiende a flotar cuando se riega, aunque esto no representa problema para el crecimiento de las plantas. Al mezclarse con suelo se mejora la aereación y el drenaje. Por otro lado la vermiculita que es otro tipo de aluminosilicato formado de una serie de capas con alta capacidad de absorción de agua y nutrientes, la retención de humedad y de nutrientes ocurre en la superficie externa y entre las partículas de las capas. Tiene una capacidad alta de intercambio catiónico y contiene grandes cantidades de potasio y magnesio que pueden ser aprovechados en el crecimiento de las plantas. Su capacidad de retención de agua es de hasta 500% en base a su peso, presenta alta capacidad de intercambio catiónico y de amortiguamiento, la primera esta

relacionada con la toma de nutrientes mientras que la segunda se relaciona con la habilidad del material para resistir cambios en el pH (Mastalerz, 1977; Boodley, 1981).

En 9 botellas se agregaron 140 g de agrolita y en otras 9 se colocó la misma cantidad de vermiculita. Se humedeció el sustrato con 100 ml. de agua destilada y con ayuda de unas pinzas se sembraron 20 semillas (con una separación de 2 cm entre ellas), en cada una de las botellas. Después de la siembra las botellas se cerraron y sellaron en la parte del corte con "masking tape", la boca de la botella se cerro con los tapones de hule descritos anteriormente y se sellaron con "parafilm".

#### 4.5 Diseño experimental.

Se realizaron dos experimentos independientes, uno en agrolita y otro en vermiculita, con el fin de probar cada uno de los sustratos sobre el crecimiento de las plantas, cada tratamiento bajo un diseño experimental completamente al azar con 3 repeticiones, para 3 concentraciones diferentes de CO<sub>2</sub> (Tratamientos control, 620 y 920 ppm), en la utilización de este diseño experimental se supone que todas las plantas tienen una condición igual en el ambiente en el cual fueron colocadas las botellas.

Las botellas se mantuvieron en un cubículo del edificio de Botánica en el que se registró una temperatura promedio de 20°C, aunque la humedad relativa dentro de las botellas no fue controlada se estimó que ésta fue cerca del 100% durante todo el

día, puesto que se observó condensación en las paredes de las botellas. El período de luz que recibieron las botellas fue de un promedio de 10 horas diarias. Se aplicaron riegos dos veces por semana con una solución de Hoagland (Hoagland y Arnon, 1950), con el fin de mantener una buena disponibilidad de agua y nutrientes en los substratos. Estas aplicaciones se hicieron en el momento de abrir las botellas para permitir su ventilación.

#### 4.5.1 Elaboración de la solución Hoagland.

- A) Se prepararon 100 ml de cada una de las soluciones con una concentración de 1 Molar:

Cantidades en (ml) para la preparación de 1 litro de la solución.

|   |                            |   |
|---|----------------------------|---|
| 1. $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$                           | (Nitrato de calcio)        | 5 |
| 2. $\text{KNO}_3$                                       | (Nitrato de potasio)       | 5 |
| 3. $\text{MgSO}_4$                                      | (Sulfato de magnesio)      | 2 |
| 4. $\text{KH}_2\text{PO}_4$                             | (Fosfato ácido de potasio) | 1 |
| 5. $\text{ZnCl}_2$                                      | (Cloruro de Zinc)          | 2 |
| 6. $\text{CuSO}_4$                                      | (Sulfato de cobre)         | 2 |
| 7. $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ | (Molibdato de sodio)       | 2 |
| 8. $\text{MnCl}_2$                                      | (Cloruro de manganeso)     | 2 |
| 9. Versenato de Sodio (EDTA)                            |                            | 1 |
| 10. $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$          | (Cloruro ferroso)          | 2 |

- B) En un vaso de precipitados de 1000 ml de capacidad se agregaron 400 ml de agua destilada y se colocó en una



parrilla de agitación para la disolución de los componentes que se fueron adicionando en el orden en que se enlistan, al final se aroró a un litro.

#### 4.5.2 Tratamientos.

Se tuvieron tres réplicas de cada uno de los siguientes tratamientos de bióxido de carbono; 360, 620 y 920 ppm.

Para lograr dichas concentraciones se realizó lo siguiente:

1. Se utilizó un tanque de bióxido de carbono de uso industrial marca INFRA con una concentración mayor a 10,000 ppm.

2. Se acondicionó un matraz Kitasato de 1000 ml con una llave en la parte superior y una manguera en un costado a fin de permitir la circulación de  $\text{CO}_2$ . Para asegurar que el matraz estuviera completamente libre de aire se hizo circular una corriente de nitrógeno durante 5 minutos y posteriormente  $\text{CO}_2$  durante 10 minutos. Para saturar el matraz con este gas se colocó un tapón en la manguera lateral y enseguida se cerró la llave de entrada. De este matraz se extrajeron las muestras de  $\text{CO}_2$  con una jeringa de 20 ml y se inyectaron en el interior de las botellas a través de la manguera de hule látex, hasta alcanzar la concentración deseada, posteriormente el pequeño horificio hecho con la jeringa se selló para evitar la fuga del gas (Fig. 6).

La primera aplicación de bióxido de carbono se realizó inmediatamente después de la siembra, las adiciones posteriores se realizaron cada tercer día hasta el término del experimento.

Se obtuvo una medida de la concentración inicial después de

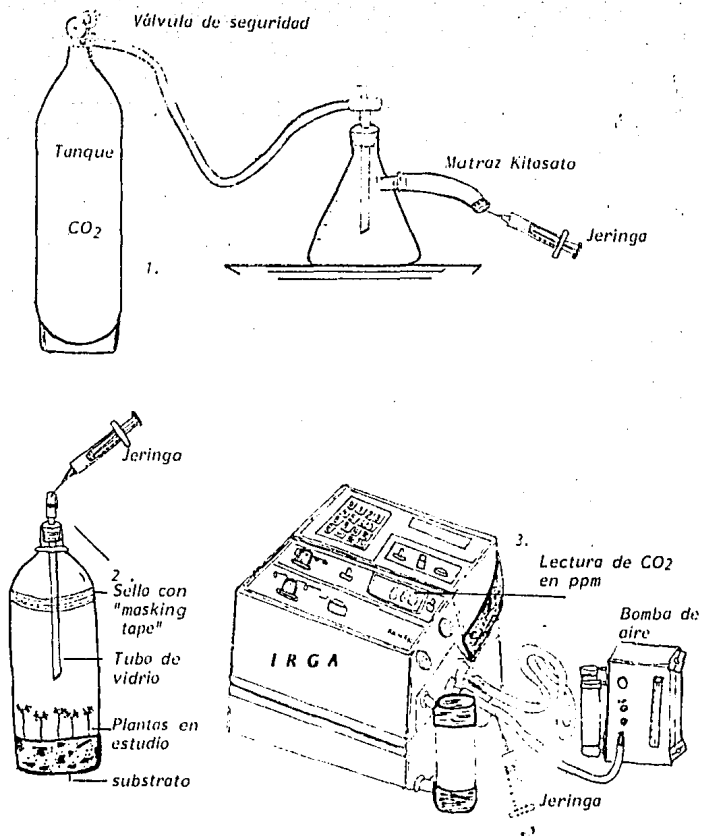


Fig. 6. Aplicación de bióxido de carbono a las cámaras.

1. Llenado del matraz Kitasato con CO<sub>2</sub> del tanque de alta concentración.
2. Inyección de bióxido de carbono a las cámaras.
3. Registro sistemático de las concentraciones de CO<sub>2</sub> con muestras tomadas del interior de las botellas.

la adición del gas y una medida final tomada al tercer día, ésto se hizo tomando una muestra con la jeringa antes de abrir las botellas. Cabe mencionar que antes de la adición del nuevo gas, las botellas se ventilaron durante dos horas, permitiendo de esta manera el intercambio gaseoso entre el interior y el exterior de las botellas para evitar la asfixia de las plantas.

Los volúmenes de  $\text{CO}_2$  suministrados fueron variables ya que el manejo del gas presentó algunas dificultades, sin embargo las concentraciones de dicho gas en el interior de las botellas fueron precisas. El registro sistemático se llevó a cabo usando un analizador de gases en infrarrojo, conocido comunmente como IRGA, del modelo LCA-2 (ADC, Inglaterra) de tipo abierto.

Para los fines de este estudio se utilizaron las siguientes partes:

- a) Unidad suministradora de aire (Bomba ASU, ADC)
- b) Analizador de gases en infrarrojo portátil (LCA-2, ADC).

Durante su uso fue necesario como primer paso, "purgar" el analizador de gases por medio de la unidad suministradora de aire que funciona como una bomba de flujo regulado, la cual toma aire del ambiente y lo manda al analizador para determinar la concentración de  $\text{CO}_2$  en el ambiente. Esta se dejó funcionar durante 3-5 min, hasta que la lectura registrada se estabilizara. Dicha lectura se tomó como referencia de la concentración ambiental y se sustituyó la bomba para inyectar el aire del interior de las botellas directamente al analizador a través de una manguera de hule látex. Se midieron cinco muestras por botella

para asegurarse que las concentraciones registradas eran correctas.

#### 4.6 Variables.

En función de los objetivos de este trabajo las variables dependientes cuantificadas fueron: peso fresco, peso seco y longitud de las plántulas.

#### 4.7 Determinación de biomasa.

Las plántulas se cosecharon tres semanas después de que emergieron las primeras hojas.

En una charola de plástico, se vació el contenido de cada botella para extraer del substrato las plántulas, con extremo cuidado para conservar integras sus partes. Se colocaron en una caja de Petri con agua destilada para lavar la raíz hasta dejarlas totalmente libres de substrato; se eliminó el exceso de agua y se colocaron en mallas de plástico. Se tomaron medidas de longitud del tallo, raíz y longitud total. Se determinó el peso fresco en una balanza digital (Ohaus, con una precisión de 1 mg), pesando pares de plántulas completas, se colocaron en cajas de Petri de 9 cm de diámetro con cuatro divisiones (8 plántulas por caja). Posteriormente las cajas se metieron en una estufa FELISA, Modelo FE-293 AD durante 24 horas a una temperatura de 64°C. Al término de la deshidratación se determinó el peso seco en una balanza analítica Mettler HK 160, con precisión de 0.1 mg.

Las plántulas se pesaron de la manera descrita para peso fresco.

#### 4.8 Análisis estadístico.

Los datos se analizaron estadísticamente como un diseño experimental completamente al azar.

Se realizó Análisis de Varianza y una prueba de separación de medias, Tukey ( $p < 0.05$ ), utilizando el programa estadístico SAS en una computadora personal AT (80286).

## V. RESULTADOS

### 5.1 Las biobotellas como sistema experimental.

La realización de este experimento se llevó a cabo en botellas desechables de plástico, encontrándose que estos recipientes resultaron unas cámaras apropiadas para mantener las concentraciones de bióxido de carbono a los niveles deseados y que éstas pueden mantenerse adecuadamente por un período corto (de uno a dos meses) en condiciones ambientales normales. El método de construcción es sencillo, fácil y de muy bajo costo. Aunque el espacio dentro de las botellas podría ser una limitante dependiendo del tipo de estudio que se realice. Debido al tipo de material de que están fabricadas pueden hacerse modificaciones para ampliar el tamaño, mantenerse en espacios pequeños y ser transportadas con facilidad, además de que se adquieren sin problema por tratarse de material de desecho.

### 5.2 Respuesta de la germinación de *Lepidium sativum* L. a incrementos de $\text{CO}_2$ .

El porcentaje de germinación entre los diferentes tratamientos no se alteró de manera significativa con ninguna de las concentraciones de  $\text{CO}_2$  utilizadas, así como tampoco se encontraron diferencias debido al tipo de substrato (agrolita ó vermiculita), obteniéndose un promedio para ambos de 98% (Cuadro 1).

Cuadro 1. Porcentajes de germinación de semillas de *Lepidium sativum* L. sometidas a diferentes concentraciones de CO<sub>2</sub>.

| Experimento       | Concentración (ppm)   | % de germinación |
|-------------------|-----------------------|------------------|
| I<br>Agrolita     | 360 (T <sub>c</sub> ) | 97               |
|                   | 620 (T <sub>1</sub> ) | 98               |
|                   | 920 (T <sub>2</sub> ) | 97               |
| II<br>Vermiculita | 360 (T <sub>c</sub> ) | 97               |
|                   | 620 (T <sub>1</sub> ) | 100              |
|                   | 920 (T <sub>2</sub> ) | 97               |

### 5.3 EXPERIMENTO EN AGROLITA.

#### 5.3.1 Peso fresco.

El peso fresco obtenido en el presente trabajo se puede observar en el cuadro 2. Dicha respuesta presentó variación entre los tratamientos de bióxido de carbono aplicados a las plántulas de *L. sativum*.

En el análisis del peso fresco, obtenido en los tratamientos en agrolita se observó que hubo un incremento del 56 y 117% para los tratamientos de 620 y 920 ppm, comparados con el tratamiento control (Cuadro 2, Fig. 7I), con diferencias estadísticas entre tratamientos.

Cuadro 2. Peso fresco de las plántulas de *L. sativum* sometidas a diferentes concentraciones de bióxido de carbono. Los valores son el promedio del peso de 40 plántulas  $\pm$  error estándar.

| Experimento       | Concentración (ppm) | Peso fresco (mg) |   | % incremento |
|-------------------|---------------------|------------------|---|--------------|
| I<br>Agrolita     | 360 ( $T_C$ )       | 22.7 $\pm$ 1.67  | D | --           |
|                   | 620 ( $T_1$ )       | 35.8 $\pm$ 1.58  | C | 56           |
|                   | 920 ( $T_2$ )       | 49.7 $\pm$ 1.65  | B | 117          |
| II<br>Vermiculita | 360 ( $T_C$ )       | 52.8 $\pm$ 3.28  | B | --           |
|                   | 620 ( $T_1$ )       | 48.0 $\pm$ 1.65  | B | -10          |
|                   | 920 ( $T_2$ )       | 79.0 $\pm$ 2.02  | A | 49           |

\* Letras iguales no tienen diferencia estadística significativa (Tukey  $p < 0.05$ ).

\*\* Los porcentajes de incremento que se presentan en el cuadro son con respecto al control de cada substrato (Agrolita ó Vermiculita).

### 5.3.2 Peso seco.

La respuesta del peso seco fue, al igual que en peso fresco, distinta entre los tres tratamientos (Cuadro 3, Fig. 7II). Las plántulas expuestas a 620 ppm ( $T_1$ ) mostraron un incremento de 62% en peso seco con respecto al tratamiento control ( $T_C$ ). Para las plántulas con la concentración más elevada 920 ppm ( $T_2$ ), se obtuvo un incremento de 67%. No hubieron diferencias estadísticas entre los tratamientos 620 y 920 ppm.



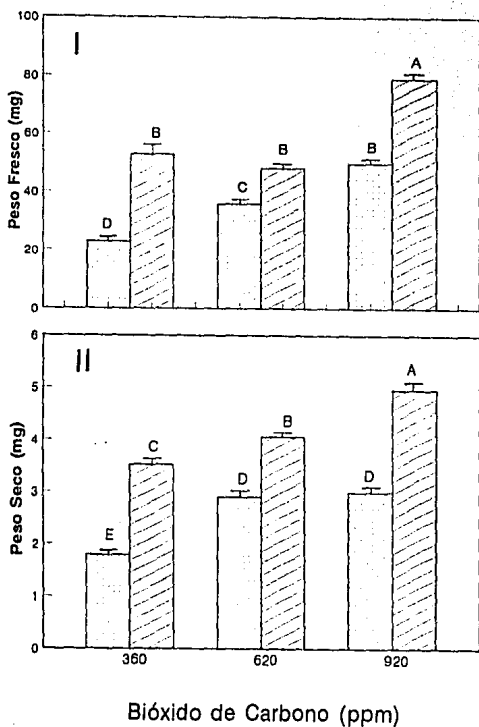


Figura 7. Peso fresco (I) y peso seco (II) de las plántulas de *Lepidium sativum* L. después de cuatro semanas de desarrollo bajo atmósferas controladas de bióxido de carbono en dos sustratos diferentes, agrolita (·) y vermiculita (//). Cada barra representa el promedio de 40 determinaciones ± error estándar.

Cuadro 3. Peso seco de las plántulas de *L. sativum* sometidas a diferentes concentraciones de bióxido de carbono. Los valores son los promedios del peso de 40 plántulas  $\pm$  error estándar.

| Experimento | Concentración (ppm)   | Peso seco (mg)  |   | % incremento |
|-------------|-----------------------|-----------------|---|--------------|
| I           | 360 (T <sub>C</sub> ) | 1.79 $\pm$ 0.08 | E | --           |
| Agrolita    | 620 (T <sub>1</sub> ) | 2.90 $\pm$ 0.12 | D | 62           |
|             | 920 (T <sub>2</sub> ) | 2.99 $\pm$ 0.11 | D | 67           |
| II          | 360 (T <sub>C</sub> ) | 3.52 $\pm$ 0.11 | C | --           |
| Vermiculita | 620 (T <sub>1</sub> ) | 4.06 $\pm$ 0.09 | B | 15           |
|             | 920 (T <sub>2</sub> ) | 4.96 $\pm$ 0.15 | A | 41           |

\* Letras iguales no tienen diferencia estadística significativa (Tukey  $p < 0.05$ ).

\*\* Los porcentajes de incremento que se presentan en el cuadro son con respecto al control de cada sustrato (Agrolita ó Vermiculita).

Si se comparan los resultados de peso fresco con los de peso seco, se observa que en el experimento con agrolita, ambos resultados tuvieron la misma tendencia, es decir a mayor concentración de CO<sub>2</sub>, mayor cantidad de peso.

### 5.3.3 Determinación de la longitud de las plántulas de *L. sativum*.

El crecimiento de las plántulas aumentó con los incrementos de las concentraciones de bióxido de carbono. La longitud obtenida para las plántulas de *L. sativum*, se presenta en el cuadro 4. Se puede notar en éste que, existe una gran variación en la respuesta obtenida para los tratamientos control y 620 ppm en función de las concentraciones de  $\text{CO}_2$  aplicadas. Al comparar los resultados entre estos dos tratamientos se encontraron incrementos para 620 ppm de 25, 74 y 45% en las medidas de longitud de tallo, raíz y longitud total de las plántulas en orden respectivo (Fig. 8), con diferencias estadísticas entre tratamientos.

Al comparar la respuesta de crecimiento de las plantas en los tratamientos de 920 ppm y el tratamiento control se observaron incrementos del 19% en raíz, 20% en tallo y 27% en longitud total (Cuadro 4, Fig. 8). Entre estos dos tratamientos, se encontraron difere estadísticas (Tukey  $p < 0.05$ ), excepto en longitud de la raíz.

Por último, del cuadro 4 se puede destacar también una notable diferencia en los resultados de longitud con respecto a lo observado en los resultados de peso fresco y peso seco.

La longitud del tallo en el tratamiento a 620 ppm fue 4% mayor que para el tratamiento a 920 ppm, en raíz, se obtuvo un incremento de 47% y en longitud total 14% a 620 ppm con respecto a 920 ppm (Fig. 8).

Estos dos tratamientos de  $\text{CO}_2$  resultaron estadísticamente iguales en todas las variables.

*Reprod. Fert. Suppl.*, 40:163-177 (1990).

- 19.- Leeson, C.R., Leeson, T.S. y Paparo, A.A.: *Histología*. 5ª ed. Nueva Editorial Interamericana S.A. de C.V. México D.F., 1987.
- 20.- Lischinsky, A., Khalil, M.W., Hobkirk, R. and Armstrong, D.T.: Formation of androgen conjugates by porcine granulosa cells. *J. Steroid Biochem.*, 19:1435-1440 (1983).
- 21.- Moor, R.M.: Sites of steroid production in ovine Graafian follicles in culture. *J. Endocr.*, 73:143 (1977).
- 22.- Moor, R.M., Hay, M.F., Dott, H.M. and Cran, D.G.: Macroscopy identification and steroidogenic function of atretic follicles in sheep. *J. Endocr.*, 77:309-318 (1978).
- 23.- Pedernera, E., Gómez, Y., Velázquez, P., Juárez-Oropeza, M.A. and González del Pliego, M.: Identification of steroidogenic cell subpopulations in the ovary of the newly hatched chicken. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 71:153-162 (1988).
- 24.- Short, R.V.: Steroids in the follicular fluid and the

Cuadro 4. Longitud del tallo, raíz, y longitud total de plántulas de *L. sativum* sometidas a incrementos de CO<sub>2</sub>. Los valores son el promedio de 10 plantas completas ± error estándar.

| Exp.       | Concentración<br>(ppm) | Longitud (cm)    |           |                    |           |                   |           |
|------------|------------------------|------------------|-----------|--------------------|-----------|-------------------|-----------|
|            |                        | Tallo            | Inc.<br>% | Raíz               | Inc.<br>% | Total             | Inc.<br>% |
| I<br>Agr.  | 360 (T <sub>C</sub> )  | ±5.41<br>±0.28 c | 0         | ±3.63<br>±0.45 c   | 0         | ±10.36<br>±0.71 c | 0         |
|            | 620 (T <sub>1</sub> )  | ±6.75<br>±0.19 B | 25        | ±6.30<br>±0.57 B   | 74        | ±15.05<br>±0.61 B | 45        |
|            | 920 (T <sub>2</sub> )  | ±6.50<br>±0.25 B | 20        | ±4.30<br>±0.25 B C | 19        | ±13.20<br>±0.39 B | 27        |
| II<br>Ver. | 360 (T <sub>C</sub> )  | ±6.96<br>±0.28 B | 0         | ±3.94<br>±0.33 B   | 0         | ±13.10<br>±0.53 B | 0         |
|            | 620 (T <sub>1</sub> )  | ±6.85<br>±0.21 B | -1.6      | ±9.95<br>±0.67 A   | 153       | ±19.25<br>±0.71 A | 47        |
|            | 920 (T <sub>2</sub> )  | ±8.25<br>±0.31 A | 19        | ±8.80<br>±0.78 A   | 123       | ±20.15<br>±0.73 A | 54        |

\* Letras iguales no tienen diferencia estadística dentro de cada variable (Tukey p < 0.05).

\*\* Los porcentajes de incremento que se presentan en el cuadro son con respecto al control de cada sustrato (Agrolita, I, Vermiculita II).

- corpus luteum of the mare. A "two-cell type" theory of ovarian steroid synthesis. *J. Endocr.*, 24:59-63 (1962).
- 25.- Sisson, S. and Grossman, J.D.: Anatomía de los animales domésticos Tomo I y II. 5ª ed. Salvat Editores, México, D.F., 1982.
- 26.- Stoklosawa, S., Gregoraszcuk, E. and Channing, C.P.: Estrogen and progesterone secretion by isolated cultured porcine thecal and granulosa cells. *Biol. Reprod.*, 26:943-52 (1982).
- 27.- Tennant, J.R.: Evaluation of the trypan blue technique for the determination of cell viability. *Transplantation.*, 2:685-694 (1964).
- 28.- Tonetta, S.A., Vinna De R.S. and Zeraga di, G.S.: Modulation of porcine thecal cell aromatase by human chorionic gonadotropin, progesterone, estradiol-17 $\beta$ , and dihydrotestosterone. *Biol. Reprod.*, 35:785-791 (1986).
- 29.- Tsang, B.K., Armstrong, D.T. and Whitfield, J.F.: Steroid biosynthesis by isolated human ovarian follicular cells in vitro. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51:1407-1411 (1980).

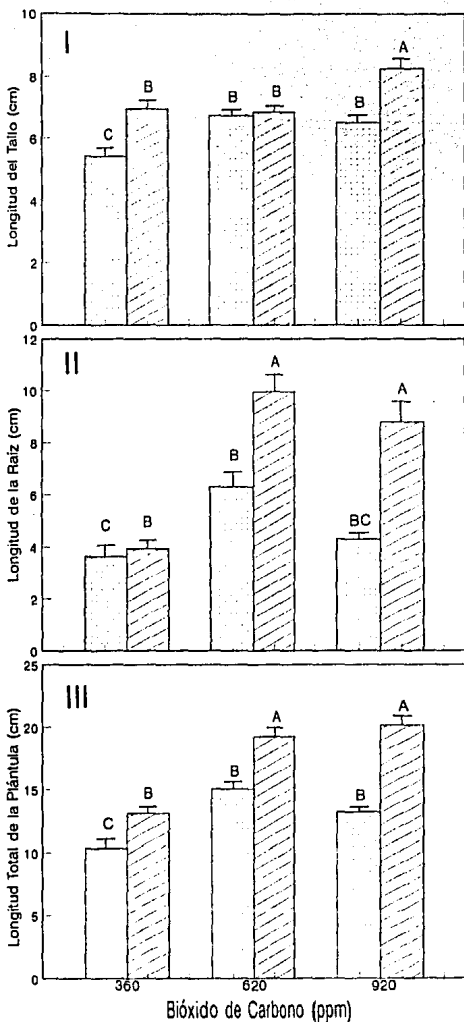


Figura 8. Longitud del tallo (I), longitud de la raíz (II) y longitud total (III) de las plantas de *Lepidium sativum* después de cuatro semanas de desarrollo bajo atmósferas controladas de bióxido de carbono en dos substratos diferentes, agrolita ( ) y vermiculita ( / ). Cada barra representa el promedio de 10 determinaciones  $\pm$  error estándar

## 5.4 EXPERIMENTO EN VERMICULITA.

### 5.4.1 Peso fresco.

Las respuesta del peso fresco observada en la concentración de 620 ppm en vermiculita no mostró la misma tendencia que se observó en peso seco ya que los valores más altos en este caso fueron para el control y para la concentración de 920 ppm, con esta concentración se encontró un incremento de 49% con respecto al control (Cuadro 2, Fig. 7I). La diferencia entre los valores del control (5.28) y la concentración de 620 ppm (4.80) fue de 0.48 lo que representó una disminución del 10% en peso fresco para 620 ppm con respecto al control. Ambos tratamientos no tuvieron diferencia estadística significativa (Tukey  $p < 0.05$ ).

Al comparar los resultados entre los dos substratos se encontró que los tratamientos control y 620 ppm en vermiculita y 920 ppm en agrolita no presentaron diferencias estadísticas.

### 5.4.2 Peso seco.

Las plántulas desarrolladas en vermiculita expuestas a las concentraciones ya mencionadas, mostraron incrementos con respecto al control de 15 y 41% para 620 y 920 ppm respectivamente (Cuadro 3, Fig. 7II), siendo estos incrementos estadísticamente diferentes (Tukey  $p < 0.05$ ).

En el experimento con vermiculita se encontró que los resultados de peso fresco no mostraron la tendencia que se observó en el experimento con agrolita (mayor concentración , mayor



cantidad de peso) excepto para la concentración de 920 ppm (Fig. 7). No obstante, el decremento que se encontró en la concentración de 620 ppm con respecto al control no fue estadísticamente significativo, en cuanto a peso seco, la tendencia fue similar a la observada en agrolita.

La comparación entre tratamientos para los dos sustratos, mostró diferencias estadísticas (Tukey  $p < 0.05$ ), con excepción de los tratamientos de 620 y 920 ppm en agrolita.

La acumulación de biomasa en el sustrato de agrolita fue menor comparada con la respuesta en vermiculita, para este último sustrato se obtuvieron incrementos con respecto a lo observado en agrolita de 97, 36 y 66% para los tratamientos control, 620 y 920 ppm respectivamente.

En este caso el tipo de sustrato fue un factor determinante puesto que se observó una notable diferencia entre las plántulas que crecieron en agrolita y vermiculita, ya que este último sustrato tiene mayor capacidad de absorción que la agrolita.

#### 5.4.3 Determinación de la longitud de las plántulas de *L. sativum*.

En el experimento en vermiculita se obtuvieron incrementos para 620 ppm con respecto al control de 153% en raíz y 47% en longitud total, para el tallo no se observó ningún incremento, sino por el contrario, se observó que el valor del tratamiento control estuvo por encima del valor de 620 ppm en 1.6% (Cuadro 4, Fig. 8I). No se encontraron diferencias estadísticas entre los

tratamientos de 620 ppm y el control para la variable longitud del tallo (Cuadro 4).

El tratamiento de 920 ppm mostró con respecto al control un incremento en el tallo de 19%, en la raíz de 123% y 54% en longitud total (Cuadro 4). Existiendo diferencias estadísticas entre estos tratamientos (Tukey  $p < 0.05$ ).

En la comparación de la respuesta de las plántulas para los tratamientos de concentraciones elevadas, 620 y 920 ppm (Cuadro 4), se encontró que para 920 ppm se obtuvieron incrementos con respecto a 620 ppm de 20 y 5 % en longitud de tallo y longitud total en orden respectivo (Figs. 8I y 8III), la variable longitud de la raíz presentó un decremento del 13% (Cuadro 4, Fig. 8II).

Entre tratamientos no existieron diferencias estadísticas, excepto en el caso del tallo (Tukey  $p < 0.05$ ).

En resumen, el sistema radical observó una notable diferencia entre las plántulas que crecieron a 320, 620 y 920 ppm. El crecimiento de la raíz respondió favorablemente a las dos concentraciones elevadas, su longitud total se incrementó en más del doble comparada con el control en el caso del sustrato de vermiculita, con la agrolita no se llegó a ésta magnitud, sin embargo a 620 ppm se obtuvo un incremento significativo (Fig. 9).

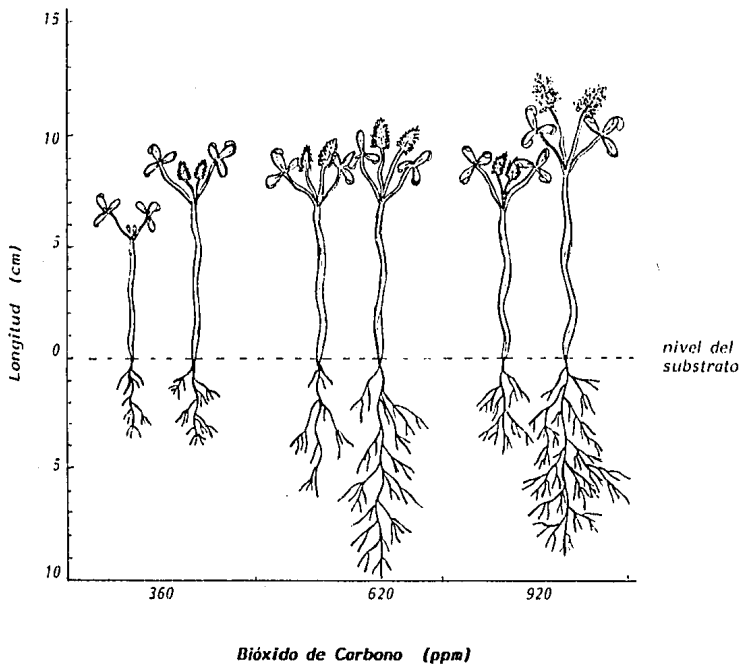


Fig. 9 Efectos del CO<sub>2</sub> en el crecimiento de diferentes órganos de *Lepidium sativum* L. "lentejilla". La longitud corresponde al promedio de 10 plantas para cada tratamiento.

Agrolita (A), Vermiculita (V).

## VI. DISCUSION

El empleo de recipientes desechables de plástico en la realización de éste experimento ofreció una vía muy económica que a pesar de algunas restricciones, entre éstas el no poder mantener plantas de mayor tamaño dado el espacio y número de plantas en cada botella, éstos recipientes resultaron apropiados para mantener las concentraciones de  $CO_2$  a los niveles deseados, y pudieron mantenerse adecuadamente por un período de cuatro semanas en condiciones ambientales normales, ya que en este caso, la temperatura del interior de las botellas fue la misma que en el exterior. Esto debido a la época en que se realizó el experimento y a que las botellas no estuvieron expuestas directamente al sol. Sin embargo, si tuvieron la luz suficiente para su desarrollo, por otro lado cabe mencionar que dentro de las botellas había una alta humedad relativa.

Dado que la realización del experimento se llevó a cabo en botellas desechables de plástico con el fin de evaluar si estas podían ser útiles como cámaras apropiadas para efectuar estudios donde se pretende mantener una atmósfera controlada, se decidió no tener un control en una cámara abierta, lo cual se consideró no sería comparable con el comportamiento de las plantas desarrolladas dentro de las botellas.

Por otra parte, numerosas investigaciones han demostrado que el bióxido de carbono es un factor importante para el crecimiento

de las plantas. Los experimentos descritos en este trabajo muestran que las semillas de *L. sativum* sometidas a incrementos de  $\text{CO}_2$  no tuvieron adelanto ni retraso en la germinación respecto a los tratamientos control, lo cual sugiere que las altas concentraciones de bióxido de carbono no tuvieron ningún efecto sobre la germinación de las semillas de esta especie. Por otro lado, es importante señalar que los niveles de bióxido de carbono dentro de las botellas se vieron incrementados durante la germinación, sobre todo en la concentración ambiental, con un incremento menor en donde estaban las concentraciones de  $\text{CO}_2$  más altas, ya que en estas últimas sólo se incrementó en un 25% mientras que con la concentración ambiental se tuvieron incrementos hasta de dos veces ésta concentración. Posiblemente el incremento observado en la concentración ambiental es debido a que durante la germinación existe desprendimiento de bióxido de carbono lo cual podría explicar el porqué de éste incremento en el interior de las botellas, aunque ya se señaló anteriormente que la germinación no fue afectada por las altas concentraciones de  $\text{CO}_2$ , posiblemente el bajo incremento de bióxido de carbono observado en éstas fue debido a que la velocidad de germinación fue menor ya que aunque cualitativamente se determinó una germinación homogénea, cuantitativamente no se evaluó. Estos incrementos sólo ocurrieron durante la germinación (detectado esto seis días después de la siembra cuando estaba emergiendo la plántula), en ese momento se cambió la concentración del interior de las

botellas a las concentraciones en estudio.

Uno de los aspectos importantes a considerar cuando las plantas realizan intercambios de bióxido de carbono y vapor de agua, es que dichos intercambios son favorecidos cuando las plantas se encuentran en un ambiente en que el aire tenga un flujo turbulento, ya que éste, favorece la entrada y salida de los gases a través de los estomas de la planta, debido a que se reduce la resistencia de capa de frontera. En este trabajo no se utilizó ningún dispositivo para tratar de mantener un flujo turbulento dentro de las botellas porque el objetivo principal fue evaluar un sistema sencillo en el cual se mantuvieran altas concentraciones de bióxido de carbono, para que un sistema como este pueda ser utilizado en cualquier sitio (y en cualquier nivel), sobre todo a un bajo costo. Sería importante que en la continuación de trabajos semejantes a este se implementen dispositivos que permitan mantener flujos de aire turbulentos dentro de las botellas, aunque esto encarecería el sistema. Cabe mencionar que aún con las restricciones que presentó este sistema, los objetivos se cumplieron, ya que se encontraron marcadas diferencias entre tratamientos.

En la respuesta fisiológica de acumulación de peso fresco, se obtuvieron resultados variables; en comparación a los resultados de peso seco, es decir, la tendencia de mayor acumulación de peso en función a los incrementos de  $\text{CO}_2$  no se observaron en este caso (Fig. 7). Esto se debió posiblemente a las variaciones que se

presentan en el momento de la cosecha y cuantificación de peso fresco, ya que los resultados dependen del contenido de agua en la planta, la rapidez con que se pese antes de que se evapore ésta y la hora en que se efectúe la cuantificación. Por ejemplo, una hoja siempre tiene mayor cantidad de masa fresca en la mañana que a medio día debido a la transpiración (Salisbury y Ross, 1992).

En cuanto a la acumulación de peso seco, las plantas de *Lepidium sativum* L. respondieron favorablemente a los niveles de bióxido de carbono superiores a 360 ppm incrementando la acumulación de biomasa en relación a las concentraciones de dicho gas (Fig. 7II).

La respuesta observada en el peso seco en este trabajo, es similar a la encontrada por Harley et al., (1992) en experimentos con algodón (*Gossypium hirsutum* L.) expuesto a concentraciones de CO<sub>2</sub> de 65 Pa (aproximadamente 650 ppm), donde se tuvieron incrementos en biomasa del 30%, con respecto a las que fueron expuestas a 35 Pa (aproximadamente 350 ppm). Estos autores, señalan que Thomas y Strain (1991), trabajando con la misma especie y las mismas concentraciones obtuvieron resultados similares.

Por otro lado Havelka et al., (1984) (citado por Lawlor y Mitchell, 1991) utilizando concentraciones de CO<sub>2</sub> de 1200 cm<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>, durante todo el ciclo en cultivares de soya Kent y Ware, encontraron incrementos de materia seca hasta de 54 y 28% respectivamente.

El efecto inductor de altas concentraciones de  $\text{CO}_2$  sobre el crecimiento de las plantas era esperado si se considera que existe una estrecha relación entre la fotosíntesis y la acumulación de biomasa (Zelitch, 1982). No obstante Dutton et al., (1988), señalan que los incrementos en la fotosíntesis no necesariamente se traducen en aumentos en la producción de materia seca. Haciendo referencia de las plantas con metabolismo  $\text{C}_3$  (Stitt, 1991; Farrar y Williams, 1991), señalan que con una duplicación de bióxido de carbono se estimula la fotosíntesis, lo que provoca un mayor suministro de carbohidratos para el crecimiento de las plantas, sin embargo consideran que el resto de las plantas ( $\text{C}_4$  y CAM) son incapaces por varias razones de utilizar o almacenar los carbohidratos adicionales, debido a que su tasa fotosintética es casi máxima para el nivel actual de bióxido de carbono.

Respecto a los resultados del presente trabajo, se plantea que el incremento de la longitud de las plántulas probablemente fue debido a que las concentraciones altas utilizadas favorecieron un aumento en la asimilación de bióxido de carbono que permitió que las plantas tuvieran un mejor crecimiento y desarrollo de sus componentes (hojas, tallo y raíz). Esto coincide con lo encontrado por Allen, (1989), quien reporta que concentraciones elevadas de  $\text{CO}_2$  (superiores a las 350 ppm) se manifiestan en incrementos de tamaño y peso seco en la mayoría de los componentes de las plantas. Lorente y Redaño (1992), por su parte señalan que en ambientes ricos en bióxido de carbono se presentan aumentos en la



superficie de las hojas y la longitud de sus raíces. Por otro lado, se señala que los incrementos de  $\text{CO}_2$  tienen un mayor efecto en el crecimiento de la raíz que en el tallo, en raíz se han encontrado incrementos en diámetro, longitud, volumen y peso seco, Rogers et al., (1992) reportan incrementos para plantas de soya expuestas a concentraciones de  $\text{CO}_2$  de  $700 \mu\text{mol mol}^{-1}$  de 110% en la longitud de la raíz y 143% en peso seco de la misma, en comparación con las expuestas a concentraciones de  $350 \mu\text{mol mol}^{-1}$ . De acuerdo con lo observado por estos autores los resultados obtenidos para el presente estudio muestran también que la raíz fue la más favorecida presentando mayores incrementos en longitud que el tallo y las hojas (incluidas en longitud total). Mousseau y Saugier, (1990) (citados por Minster y Merlivat, 1992) reportan que los castaños, en presencia de un nivel de  $\text{CO}_2$  que duplique al nivel actual, extienden más su sistema de raíces que sus partes aéreas. Es posible deducir que un mejor desarrollo de la raíz aumenta la probabilidad de penetración en el substrato para llevar a cabo una mejor exploración y tener acceso a mayor cantidad de nutrientes. Igualmente un estímulo de  $\text{CO}_2$  puede conducir a las plantas cultivadas en el campo a explorar mejor el suelo de modo que la absorción de sales minerales por las raíces aumenta incluso cuando la cantidad de nutrientes es pequeña (Minster y Merlivat, 1992). Aunque existen otros factores que pueden limitar el crecimiento de la raíz, como la temperatura, aereación, disponibilidad de agua, y tipo de suelo entre otros (Salisbury y

Ross, 1992). A este respecto la diferencia de la respuesta de crecimiento de las plántulas de *L. sativum* encontrada entre las desarrolladas en agrolita y vermiculita se podría atribuir al tipo de substrato ya que en vermiculita se retiene mayor cantidad de humedad que en agrolita. Por otra parte, aunque el objetivo de explorar los aspectos de crecimiento de *L. sativum* bajo ambientes controlados se logró con mayor claridad utilizando vermiculita, los resultados con agrolita también mostraron un efecto claro de los incrementos de CO<sub>2</sub> sobre el crecimiento de las plantas (Figs. 8 y 9).

## VII. CONCLUSIONES

Las botellas de plástico desechable (zepelines) utilizadas en el presente estudio permiten realizar experimentos en condiciones de atmósferas controladas, y representan un sistema de bajo costo para la comprensión de algunos aspectos fisiológicos de las plantas.

Las plantas de *Lepidium sativum* L. desarrolladas en ambientes con altas concentraciones de bióxido de carbono responden incrementando la acumulación de biomasa (peso seco) en intervalos de tiempo semejante (cuatro semanas).

En este trabajo los incrementos de bióxido de carbono tienen un mayor efecto sobre el crecimiento de la raíz que sobre la parte aérea de la planta.

La vermiculita resultó ser mejor sustrato que la agrolita para desarrollar plantas de *Lepidium sativum* L. en hidroponía.

## VIII. L I T E R A T U R A   C I T A D A

- Allen, L.H., Jr., K.J. Boote, J.W. Jones, P.H. Jones, R.R. Valle, B. Acock, H.H. Rogers and R.C. Dahlam. 1987. Response of vegetation to rising carbon dioxide: Photosynthesis, biomass and seed yield of soybean. *Global Biochemical Cycles*, 1: 1-14.
- Allen, L.H., Jr. 1989. Global climate change and its impact on plant growth regulator. Society of America. 16th. Annual Meeting. Ag. 6-10.
- Ashenden, T.W., R. Baxter and C.R. Rafarel. 1992. An inexpensive system for exposing plants in the field to elevated concentrations of CO<sub>2</sub>. *Plant Cell and Environment*. 15:365-372.
- Babor, J.A. e Ibarz, A.J. 1958. *Química General Moderna*. Edinal, México. 902 pp.
- Bazzas, F.A. and Fajer, E.D. 1992. Plant life in a CO<sub>2</sub>-Rich World. *Scientific American*, 266 (1): 18-24.
- Bohinski, R.C. 1987. *Bioquímica*. Ed. Iberoamericana. México. 620 pp.
- Boodley, J.W. 1981. *The Commercial Greenhouse Handbook*. Van Nostrand Reinhold Company. USA. 568 pp.
- Bottle Biology Programs. 1991. University of Wisconsin-Madison. EUA. 15 pp.
- Christen, H.R. 1977. *Fundamentos de la Química General e Inorgánica*. Reverté, España. 840 pp.

- Coombs, J. 1988. Metabolismo del Carbono. En: Coombs, J., D.O. Hall, S.P. Long, y J.M.O. Scurlock. Técnicas de Fotosíntesis y Bioproduktividad. Ed. Futura, México. 258 pp.
- Courtin, R., Ch. P. Mackay y J. Pollack. 1992. El efecto invernadero en el Sistema Solar. Mundo Científico. 126 (12):632-638.
- Cronquist, A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University, Press. USA. 1262 pp.
- Devlin, R.M. 1980. Fisiología Vegetal. Omega S.A. Barcelona, España. 517 pp.
- Dickerson, R.E. 1978. La evolución química y el origen de la vida. Investigación y Ciencia. 26: 34-53.
- Dutton, R.C., J. Jiao, M.J. Tsujita and B. Grodzinski. 1988. Whole plant CO<sub>2</sub> exchange measurements for nondestructive estimation of growth. Plant Physiol. 86: 355-358.
- Enoch, H.Z. 1988. Global and Horticultural Carbon Dioxide Enrichment. En Neuman, P.M., Plant Growth and Leaf-applied Chemicals. CRC Press, Boca Raton, Fl. Chap. 9. 178 pp.
- Farrar, J.F. and Williams, M.L. 1991. The effects of increased atmospheric carbon dioxide and temperature on carbon partitioning, source-sink relations and respiration. Plant Cell and Environment. 14: 819-830.
- Fast Plant/Bottle Biology Notes. 1992. University of Wisconsin-Madison. USA. Vol. 2(5): 1-7.
- Flora de Europa. 1964. Cambridge University Press. Gran Bretaña. 454 pp.

- Foyer, Ch. H. 1987. Fotosíntesis. CECOSA. México. 212 pp.
- Funsch, R.W., R.H. Mattsoa, and G.R. Mowry. 1970. CO<sub>2</sub> supplemented atmosphere increases growth of *Pinus strobus* seedlings. For. Sci. 16: 459.
- García, E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación de Köppen. UNAM. Instituto de Geografía. México. 246 pp.
- Gay, C., L. Menchaca y C. Conde. 1991. El efecto invernadero y México. Ciencias. 22: 3-10.
- Harley, P.C., R.B. Thomas, J.F Reynolds and B.R. Strain. 1992. Modelling photosynthesis of cotton growth in elevated CO<sub>2</sub>. Plant Cell and Environment. 15: 271-282.
- Hoagland, D.R. and Arnon, D.I. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. Calif. Agric. Exp. Sta. Circular 347. En: Moore, Thomas C. 1974. Research experiences in Plant Physiology. USA. 361-380.
- Institute for biospheric Research. 1991. The greening of planet earth. Western Fuel Association, Inc. USA. En video (se utilizó el guión).
- Jones, P., L.H. Allen, Jr., J.W. Jones and R.R. Valle. 1985. Photosynthesis and transpiration responses of soybean canopies to short and long-term CO<sub>2</sub> treatments. Agron. J. 77: 119-126.
- Kimball, B.A. 1983. Carbon dioxide and agricultural yield: An assemblage and analysis of 430 prior observations. Agron. J. 75: 779-788.
- Kimball, B.A. 1986. Influence of elevated CO<sub>2</sub> on crop yield in

- carbon dioxide enrichment of greenhouse crops, Vol. II, Enoch, H.Z. and Kimball, A.B., CRC Press, Boca Raton, Fl. Chap. 8. 182 pp.
- Lambert, G. 1992. Los gases del efecto invernadero. Mundo Científico. 126 (12): 648-655.
- Larqué-Saavedra, A. y Rodríguez, G.M.T. 1993. Fisiología Vegetal Experimental. Ed. Trillas. México. 193 pp.
- Larqué-Saavedra, A. y Trejo, L.C. 1990. El agua en las plantas. Ed. Trillas. México. 88 pp.
- Lawlor, D.W. and Mitchell, R.A.C. 1991. The effects of increasing CO<sub>2</sub> on crop photosynthesis and productivity: a review of field studies. Plant Cell and Environment. 14: 807-818.
- Lenhinger, A.L. 1979. Bioquímica. Omega S.A. Barcelona, España. 1013 pp.
- Le Treut, H. y Kandel, R. 1992. ¿Qué nos enseñan los Modelos del Clima? Mundo Científico. 126(12): 664-673.
- Long, S.P. 1982. Medición del intercambio gaseoso fotosintético. En: Desierto y Ciencia. Cent. Inv. en Quím. Aplic. Saltillo, Coah., México. 48 pp.
- Long, S.P. y Hallgren, J.E. 1988. Mediciones de asimilación de carbono por las plantas en el campo y laboratorio. En: Coombs, J., D.O. Hall, S.P. Long y J.M.O. Scurlock. Técnicas en fotosíntesis y bioproductividad. Ed. Futura, México. 258 pp.
- Lorente, J. y Redaño, A. 1992. Calentamiento global y ciclo hidrológico. Mundo Científico. 126(12): 656-663.

- Lorenzo, P., C. Moroto and N. Castilla. 1990. CO<sub>2</sub> in plastic greenhouse in Almeria (Spain). Act. Hortic. 268: 165-169.
- Mabberley, D. J. 1981. The plant book. Cambridge University Press. Gran Bretaña. 706 pp.
- Margulis, L. 1981. Symbiosis and cell evolution; Life and its environment on early earth, W.H. Freeman, San Francisco. USA.
- Masera, O. 1991. México y el cambio climático global. Ciencia y Desarrollo. 100(17): 52-67.
- Mastalerz, J.W. 1977. The Greenhouse Environment. John Wiley & Sons. USA. 628 pp.
- Minster, J.F. y Merlivat, L. 1992. ¿A dónde va el gas carbónico? Mundo Científico. 126(12): 682-692.
- Rojas, G.M. 1993. Fisiología Vegetal Aplicada. Interamericana Mc Graw Hill. México. 275 pp.
- Rogers, H.H., C.M. Peterson, J.N. McCrimmon and J.D. Cure. 1992. Response of plant roots to elevated atmospheric carbon dioxide. Plant Cell and Environment. 15: 749-752.
- Salisbury, F.B. and C.W. Ross. 1992. Plant Physiology. Wadsworth. Inc. Betmont, Cal. 682 pp.
- Sánchez, S.O. y Lima, G.S. 1986. Biología. Ed. Herrero. México. 231 pp.
- Sionit, N., B.R. Strain, and H. Hellmers. 1981. Effects of different concentrations of atmospheric CO<sub>2</sub> on growth and yield components of wheat. J. Agron. Sci. 79: 335.
- Sionit, N., H. Hellmers, and Straint B.R. 1982. Interactions of atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment and irradiance on plant growth. Agron. J. 74: 721.



- Smith, G. and Lock, R. 1992. A lemonade bottle model of visking tubing—a model system of a model system? J. Biol. Educ. 26 (1): 8-9.
- Stitt, M. 1991. Rising CO<sub>2</sub> levels and their potential significance for carbon flow in photosynthetic cells. Plant Cell and Environment. 14: 741-762.
- Taiz, L. and E, Zeiger. 1991. Plant Physiology. Benjamin/Cummings. Redwood City, Cal. 559 pp.
- Thuiller, P. 1992. La humanidad ante el efecto invernadero. Mundo Científico. 126(12): 603-605.
- Touren, R. 1980. Metaloides tetraivalentes. En Enciclopedia de las Ciencias Larousse. Larousse. México. 289 pp.
- Ware, G.W. and J.P. McCollum. 1980. Producing Vegetable Crops. The Interstate Printers & Publishers, Inc. USA. 607 pp.
- Zelitch, I. 1982. The close relationship between net photosynthesis and crop yield. Bioscience. 32(10): 796-802.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**