

# RESPUESTA A LA SALINIDAD DE TRES VARIEDADES DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

D. Morales<sup>✉</sup>, P. Rodríguez, María de J. Sánchez-Blanco y A. Torrecillas

**ABSTRACT.** The present work was carried out with the objective to know the behavior of different tomato varieties (*Lycopersicon esculentum* Mill.) exposed to several NaCl levels, in which INCA 9(1) and Amalia varieties were used, whose tolerance to salinity is unknown, also because they have a nice agricultural performance and P-73 indicated as tolerant. Plants developed in a growth chamber under hydroponics conditions. Evaluations were performed on biomass expressed as dry matter and leaf surface at the beginning and at the end of the trial, relative water content, stomatal conductance, transpiration, leaf water potential, osmotic potential, turgor potential and osmotic at full turgor potential, and CO<sub>2</sub> assimilation rate; besides, relative growth rate, net assimilation rate and resistance index were estimated. When analyzing varietal behavior, it was indicated that, under normal nutritional conditions, they generally presented a similar growth rate and NaCl applied to culture medium caused growth disorders. It was observed that Amalia showed a similar answer to P-73 and it was also appreciated that the varieties differed by its gas exchange capacity expressed as stomatal conductance and CO<sub>2</sub> assimilation rate, as well as water status variables, like relative water content, transpiration and leaf water potential, osmotic potential, turgor potential and osmotic at full turgor potential, that were negatively affected by NaCl, although this depression was more marked in some varieties than in others, coinciding the behavior of Amalia with P-73. It was observed that the three varieties carried out osmotic adjustment.

**Key words:** tomatoes, *Lycopersicon esculentum*, plant water relations, salt tolerance, gas exchange

**RESUMEN.** Con el objetivo de conocer el comportamiento de diferentes variedades de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) expuestas a distintos niveles de NaCl, se realizó el presente trabajo, en el que se emplearon las variedades INCA 9(1) y Amalia de buen comportamiento agrícola y que se les desconoce su tolerancia a la salinidad y la P-73 indicada como tolerante. Las plantas se desarrollaron en una cámara de crecimiento en condiciones de hidroponía. Durante el desarrollo del trabajo se realizaron evaluaciones de biomasa expresada como materia seca y de superficie foliar al inicio y al finalizar el ensayo, el contenido relativo de agua, la conductancia estomática, la transpiración, los potenciales hídrico foliar, osmótico, de presión y osmótico saturado, y la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>; además, se estimaron la tasa relativa de crecimiento, la tasa de asimilación neta y el índice de resistencia. El análisis del comportamiento de las variedades indicó que éstas en condiciones nutricionales normales, presentaron un ritmo de crecimiento en general semejante y que la adición de NaCl al medio provocó alteraciones en su crecimiento; se observó que la variedad Amalia mostró una respuesta similar a la P-73 y además que las variedades difieren en su capacidad para realizar el intercambio gaseoso, expresado mediante la conductancia estomática y la tasa de asimilación del CO<sub>2</sub>, así como en las variables del estado hídrico, como fueron el contenido relativo de agua, la transpiración y los potenciales hídrico foliar, osmótico, de turgencia y osmótico saturado, los que se vieron afectados negativamente por el NaCl, aunque esta depresión fue más pronunciada en unas variedades que en otras, coincidiendo el comportamiento de la variedad Amalia con la P-73. Se observó que las tres variedades realizaron ajuste osmótico.

**Palabras clave:** tomates, *Lycopersicon esculentum*, relaciones planta agua, tolerancia a la sal, intercambio de gases

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la salinidad está considerada como el principal factor ambiental causante de la reducción del crecimiento y de la producción vegetal a escala mundial (1).

Dr.C. D. Morales, Investigador Titular y Dr.C. P. Rodríguez, Investigador del Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, La Habana, Cuba; Dr. María de J. Sánchez-Blanco, Colaborador Científico y Dr. A. Torrecillas, Profesor de Investigación del Departamento de Riego y Salinidad, CEBAS, CSIC, España.

✉ dmorales@inca.edu.cu

Se ha planteado que aproximadamente el 10 % de la superficie terrestre está constituida por suelos salinos de diferentes tipos (2).

Según se ha indicado (3), la salinidad afecta tanto el crecimiento vegetativo como el desarrollo reproductivo y que puede reducir el número de flores, incrementar la esterilidad y alterar la duración de la floración y la maduración.

Otros procesos fisiológicos de las plantas son afectados por la presencia de sales en el medio; así se ha planteado (4) que la asimilación del CO<sub>2</sub> es sensible a estrés ambientales y que estrés de sequía y de salinidad

a menudo ocurren simultáneamente con estrés de temperatura, los que son muy comunes en zonas áridas y semi-áridas, conduciendo a la pérdida de los cultivos. Existen coincidencias de que la disminución de la fotosíntesis neta en condiciones de estrés salino es debido al cierre estomático.

Se conoce que el estrés salino altera las relaciones hídricas de las plantas a través del estrés osmótico e hídrico que provoca. En respuesta a esto, las plantas pueden desarrollar el proceso de ajuste osmótico, el que ayuda a las células de las plantas superiores a resistir el estrés salino y el déficit hídrico, manteniendo suficiente turgencia para permitir el crecimiento, transporte, acumulación y compartimentación de los iones inorgánicos y los solutos orgánicos.

Es bien conocido que las diferentes especies y variedades presentan una gran variabilidad, en cuanto a tolerancia a los distintos tipos de estrés; por su parte, el tomate es considerado como una planta moderadamente tolerante a la salinidad, aunque también se ha señalado que es particularmente sensible a la salinidad en el estado de plántulas y que el crecimiento del fruto es severamente más afectado que el crecimiento de la parte aérea.

Además, se ha señalado (5) que la tolerancia a la salinidad puede no resultar compatible con el comportamiento de variables cuantitativas deseables, como pudieran ser una alta tasa de crecimiento o una rápida producción de biomasa, lo que obliga a que se realicen investigaciones que permitan hacer una selección final de las variedades en condiciones salinas.

Considerando la problemática antes señalada, se desarrolló el presente trabajo, con el objetivo de conocer la influencia del estrés salino en el crecimiento y las relaciones hídricas de diferentes variedades de tomate.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para este estudio se utilizaron semillas de tomate de las variedades Amalia e INCA 9(1), por sus características de buen rendimiento agrícola y calidad de sus frutos, y la P-73, variedad ya establecida y con adecuado comportamiento en condiciones salinas, por lo que sirvió como patrón de comparación. Una vez germinadas las semillas, se sembraron en bandejas con vermiculita hasta los 10 días posteriores a la brotación de las plántulas. Pasado este período, se pasaron a bandejas de nueve litros con solución nutritiva de Hoagland, en las que permanecieron durante 10 días para luego aplicarles el tratamiento salino.

Para el desarrollo del trabajo se utilizó una cámara de crecimiento, en la que se implantó un fotoperíodo de 14 horas; la temperatura varió entre 25/18 gC día/noche, la humedad relativa entre 60/70 % día/noche y el PAR en el momento de máxima iluminación fue de 380 micromoles  $m^{-2}.s^{-1}$ .

Después de 10 días de aclimatación a las condiciones de hidroponía, las plantas fueron sometidas a los siguientes tratamientos:

- ↳ Control (0 mM de NaCl)
- ↳ 75 mM de NaCl
- ↳ 150 mM de NaCl.

Los tratamientos se distribuyeron según un diseño de bloques completamente aleatorizados.

Las evaluaciones realizadas consistieron en:

- ⇒ biomasa expresada a través de la masa seca de las plantas
- ⇒ superficie foliar mediante un medidor automático modelo Delta-T (*Delta-T Devices Ltd. Cambridge, UK*), a partir de la cual se estimó la tasa de asimilación neta según la expresión siguiente:

$$TAN = (W_2 - W_1) / (A_2 - A_1) (\ln A_2 - \ln A_1) / (t_2 - t_1)$$

donde:

TAN = tasa de asimilación neta

W = masa seca total de las plantas al inicio ( $W_1$ ) y al final del estudio ( $W_2$ )

A = superficie foliar total de las plantas al inicio ( $A_1$ ) y al final del estudio ( $A_2$ )

t = días desde que se iniciaron ( $t_1$ ) y hasta que finalizaron ( $t_2$ ) los tratamientos salinos

- ⇒ contenido relativo de agua
- ⇒ conductancia estomática y transpiración utilizando un porómetro LI-COR LI-1600 (*LI-COR Inc., Lincoln NE, USA*)
- ⇒ potencial hídrico foliar ( $\psi_f$ ) medido antes del alba, de acuerdo al método descrito (6), usando una cámara de presión (*Soil Moisture Equipment Co, Santa Barbara, CA*)
- ⇒ potencial osmótico ( $\psi_s$ ) medido en las mismas hojas en que se determinó el potencial hídrico foliar, después de haber sido congeladas en nitrógeno líquido y posteriormente descongeladas empleando un osmómetro de presión de vapor, Wescor 5500 (*Wescor Inc. Logan, UT*) (7)

- ⇒ potencial de turgencia ( $\psi_p$ ) de las hojas estimado por la diferencia entre el potencial hídrico foliar y el potencial osmótico

- ⇒ potencial osmótico saturado ( $\psi_{os}$ ) de la misma forma que el potencial osmótico, pero con hojas separadas de la planta y saturadas en agua destilada durante 24 horas.

- ⇒ tasa de asimilación de  $CO_2$  utilizando un medidor de fotosíntesis portátil LICOR, LI-6250

- ⇒ la tasa relativa de crecimiento se estimó a partir de las masas secas según la ecuación:

$$TRC = (\ln MS_2 - \ln MS_1) / Dt$$

donde:

TRC = tasa relativa de crecimiento

$\ln MS_1$  = logaritmo neperiano de la masa seca inicial

$\ln MS_2$  = logaritmo neperiano de la masa seca final

Dt = días desde que se iniciaron y hasta que finalizaron los tratamientos salinos

⇒ a partir de las tasas relativas de crecimiento se calculó el índice de resistencia (8).

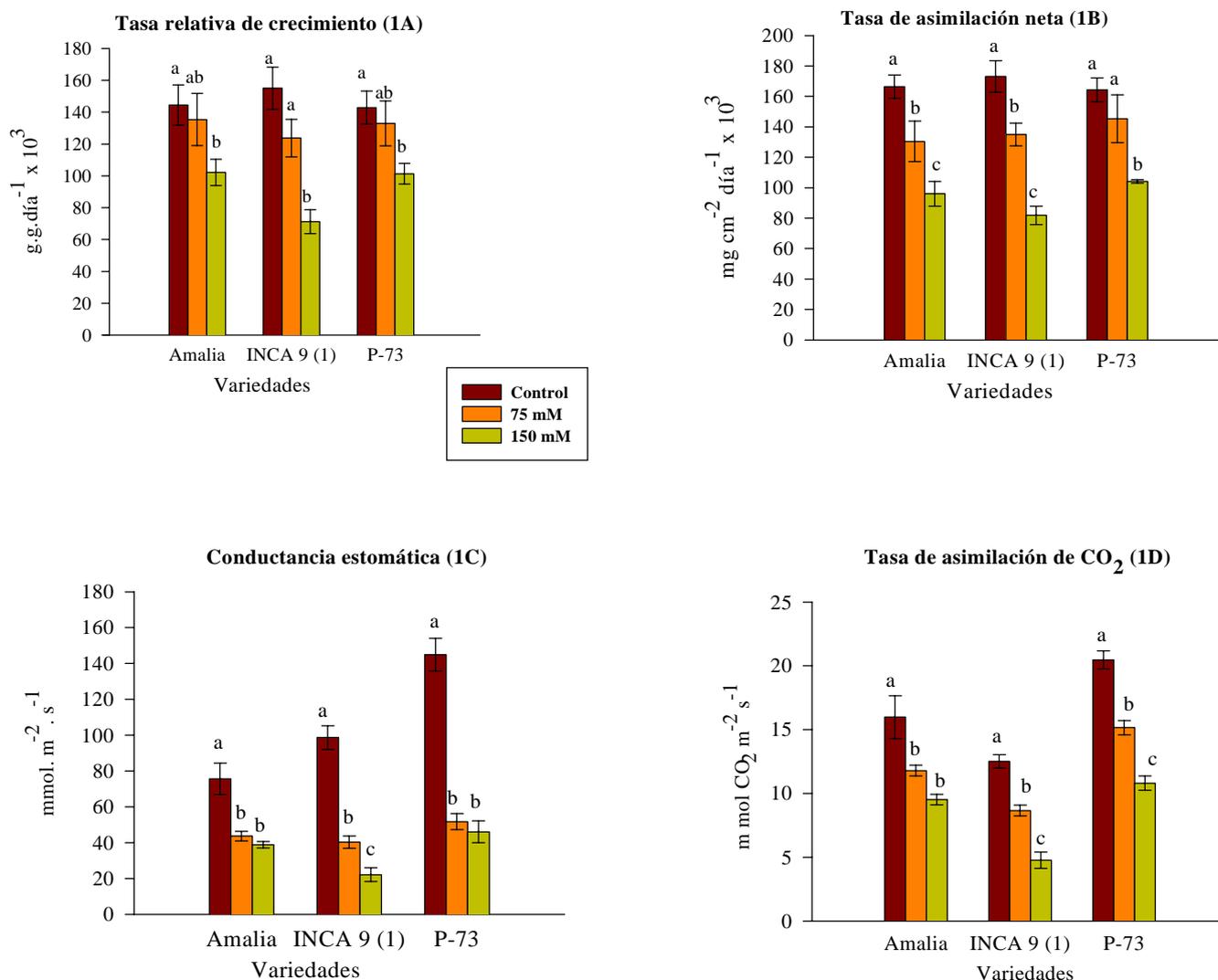
Los datos obtenidos en cinco repeticiones fueron analizados, según un modelo de Clasificación Simple y las medias se compararon según la prueba de rangos múltiples de Duncan ( $p \leq 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se observa en la Figura 1, las distintas variedades presentan un comportamiento en cuanto al ritmo de crecimiento semejante, cuando se exponen a condiciones normales de salinidad en el medio, no resultando así para las demás variables evaluadas, en las que en general se observaron diferencias entre ellas, principalmente en las variables más relacionadas con el intercambio gaseoso, es decir, la conductancia estomática, la tasa de asimilación del  $\text{CO}_2$  y la transpiración.

Al analizar el comportamiento de la tasa relativa de crecimiento (Figura 1A), se apreció que este se vio afectado de manera significativa cuando las plantas se expusieron a 150 mM de NaCl en el medio. Destaca en la figura la similitud en el comportamiento mostrado entre las variedades Amalia y P-73, así como la fuerte depresión que presenta la variedad INCA 9(1) al pasar de un medio moderadamente salino a uno de salinidad elevada, cambio que aunque también afectó a la Amalia y a la P-73, no fue tan pronunciado como en aquella, ya que en éstas los cambios no fueron significativamente diferentes.

La tasa de asimilación neta (Figura 1B), por su parte, presentó una disminución significativa entre el tratamiento con salinidad intermedia respecto al control en todos los cultivares, excepto en el cultivar P-73, pero ésta se hizo más acentuada al aumentar el contenido de NaCl.



**Figura 1.** Tasa de asimilación neta, tasa relativa de crecimiento, conductancia estomática y tasa de asimilación de  $\text{CO}_2$  en diferentes variedades de tomate en condiciones salinas. Letras desiguales indican diferencias significativas entre los tratamientos

Los resultados antes señalados concuerdan con los planteados en plantas de *Lycopersicon esculentum* (9), en *Apium graveolens* (10) y en plantas de *Haynaldoticum sardoum* (11) en cuanto a la reducción que manifiesta el crecimiento de las plantas al ser cultivadas en condiciones de salinidad, así como también están en correspondencia con los informados (5) en diferentes especies de *Eucalyptus*, respuesta que pudiera explicarse (12) por una reducción en la utilización del carbono para la síntesis de la pared celular.

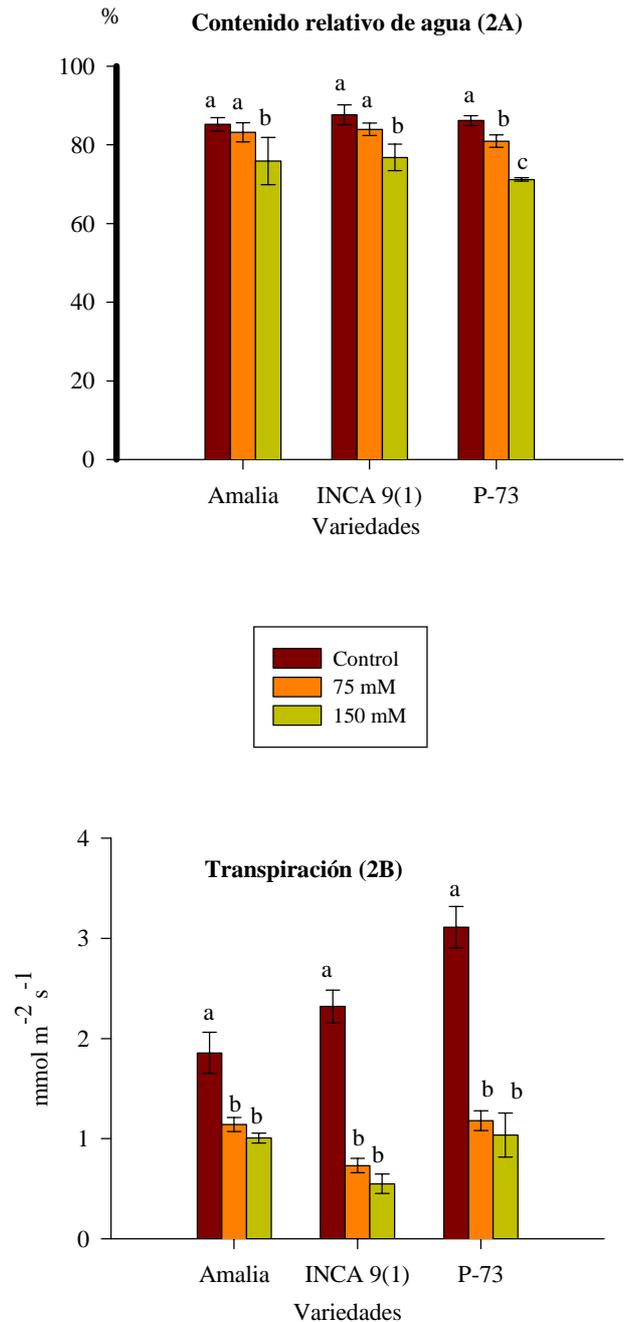
Al analizar los resultados encontrados respecto a la conductancia estomática (Figura 1C), se observó un decrecimiento significativo de esta variable en las plantas tratadas en relación con el control y el cultivar INCA 9(1) redujo aún más sus valores de conductancia cuando se incrementó el contenido de NaCl en el medio.

De igual modo, las reducciones producidas en la conductancia estomática han sido explicadas por el cierre estomático que realizan las plantas al ser sometidas a condiciones estresantes, lo que en el caso de la salinidad implica una rápida disminución del potencial hídrico foliar, conduciendo a la planta al desarrollo de mecanismos de tolerancia, que les permitan disminuir o evitar las pérdidas excesivas de agua.

Por su parte, la tasa de asimilación de  $\text{CO}_2$  (Figura 1D) si bien mostró de forma general los mayores valores en el cultivar P-73, el mejor comportamiento lo reflejó la variedad Amalia, al resultar el único cultivar en el que esta variable no disminuyó significativamente entre los tratamientos con NaCl en el medio y, además, puede destacarse la similitud entre los valores absolutos obtenidos entre este cultivar y los de P-73 en el tratamiento con 150 mM de NaCl. Al valorar los porcentajes de reducción de esta variable, se encontró que en los cultivares Amalia y P-73 se redujo un 40 y 47 % respectivamente, mientras que en INCA 9(1), esta reducción alcanzó un 62 %.

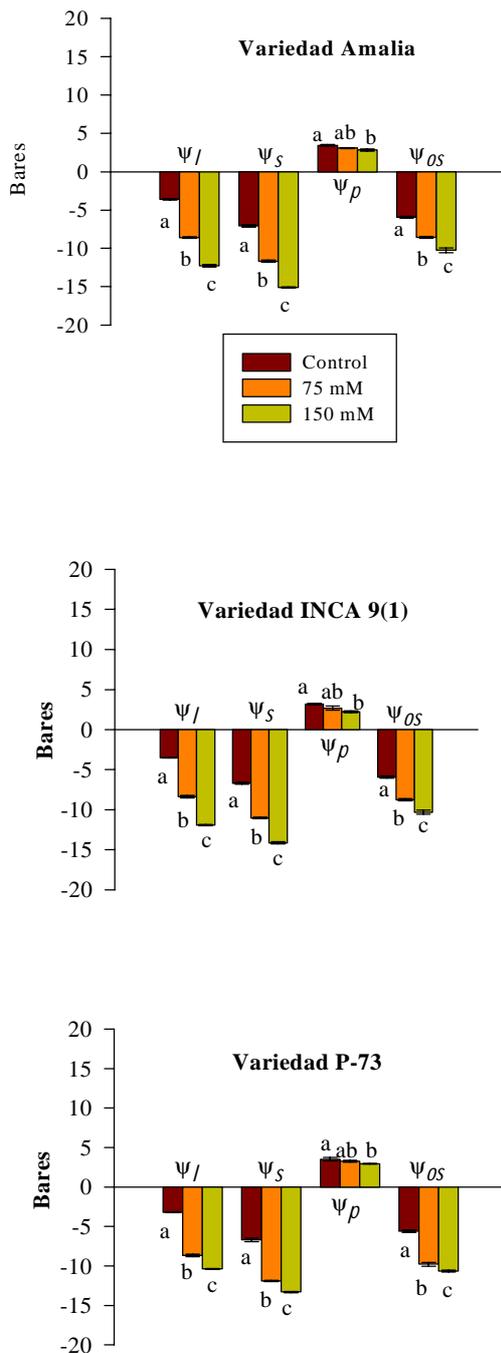
Afectaciones en el intercambio gaseoso provocado por el cierre estomático producido por la presencia de sales en el medio, han sido informadas en plantas de *Argyranthemum coronopifolium* (13) y en *Bacopa monniera* (14), entre otros.

Por su parte, el contenido relativo de agua (Figura 2A) mostró un rápido decrecimiento provocado por el estrés salino, el que se hizo significativamente inferior al de las plantas control desde que se aplicó el tratamiento con 75 mM de NaCl, en la variedad P-73 y en todas las variedades cuando se sometieron a 150 mM de NaCl, resultados que concuerdan con otros señalados (9, 15) en plantas del género *Lycopersicon* y en *Zea mays* (16), comportamiento que puede explicarse por el conocido movimiento del agua desde la zona de mayor a menor potencial, pero que está muy ligado a las características de cada variedad.



**Figura 2. Contenido relativo de agua medido antes del alba y transpiración en diferentes variedades de tomate en condiciones salinas. Letras desiguales indican diferencias significativas entre los tratamientos**

Los potenciales hídrico foliar ( $\psi_l$ ), osmótico ( $\psi_s$ ), de turgencia ( $\psi_p$ ) y el potencial osmótico saturado ( $\psi_{os}$ ), se reflejan en la Figura 3.



**Figura 3. Potencial hídrico foliar ( $\psi_f$ ), osmótico ( $\psi_s$ ) y de presión ( $\psi_p$ ) antes del alba y osmótico saturado ( $\psi_{os}$ ) en diferentes variedades de tomate en condiciones salinas. Letras desiguales indican diferencias significativas entre los tratamientos**

Se puede apreciar que el potencial hídrico foliar ( $\psi_f$ ), el potencial osmótico ( $\psi_s$ ), el potencial osmótico saturado ( $\psi_{os}$ ), la conductancia estomática y la transpiración (Figura 2B), presentaron una rápida disminución con el incremento del contenido salino en la solución, lo que

indica la existencia de señales hidráulicas capaces de ser transmitidas con gran rapidez desde las raíces hasta la parte aérea de las plantas. Sin embargo, el potencial de turgencia ( $\psi_p$ ) fue solo afectado a niveles elevados de NaCl; en ello influyó la disminución más acentuada que se produjo en el potencial hídrico foliar, en los tratamientos salinos en relación con el control. Decrecimientos de los potenciales hídrico foliar, osmóticos, de la conductancia estomática y la transpiración, han sido informados en plantas de *L. esculentum* y *L. pennellii* (15) sometidas a estrés salino, así como en *Oryza sativa* (8), *Zea mays* (16), *Spinacia oleracea* (17), y *Lycopersicon esculentum* y *Brassica rapa* (18), entre otros. Estos resultados explican muy bien la disminución de la intensidad de flujo del agua desde la raíz a la parte aérea, pues a una menor conductancia estomática le corresponderá un menor intercambio de vapor de agua y, por tanto, menor transpiración y como consecuencia un menor movimiento del agua en la planta, lo que conlleva a una menor hidratación de la parte aérea de la planta, provocando una depresión en los potenciales hídrico y osmóticos.

Puede señalarse el hecho de que todos los cultivares se ajustaron osmóticamente, incluso cuando la concentración de NaCl en el medio fue de 75 mM, lo que demuestra la capacidad de esta especie para adaptarse a condiciones desfavorables de este tipo. Resultados similares en cuanto a la respuesta de las plantas expuestas a tratamientos salinos fueron informados en diferentes cultivares de tomate (19), en plantas de remolacha azucarera (20) y en diferentes especies del género *Triticum* (21), lo que ha sido atribuido a la alta absorción de Na y K que en primera instancia realizan las plantas y que conlleva a una disminución importante del potencial osmótico, sin que se produzcan grandes pérdidas de turgencia.

**Tabla I. Índices de resistencia (IR) a la salinidad**

Variedad	IR a 75 mM	IR a 150 mM	IR general
Amalia	93.62	75.10	81.96
INCA 9(1)	79.46	45.07	62.26
P-73	93.05	70.81	81.93

Como puede apreciarse en la tabla, los niveles de reducción del índice de resistencia, en el nivel de 75 mM de NaCl en el medio, fueron similares entre los cultivares Amalia y P-73, seguidas de la INCA 9(1), mientras que a 150 mM, aún cuando el índice decrece en todos los cultivares, los mayores valores se encontraron en Amalia y P-73, lo que según otros criterios (8), refleja la mayor tolerancia de estos cultivares. Por otro lado, INCA 9(1) reflejó la mayor sensibilidad.

A modo de conclusión, se puede señalar que el análisis de esta variable, abarcando la respuesta integrada de ambos tratamientos, apuntó hacia el cultivar Amalia como el que, dentro de los no descritos como tolerantes, presentó una mayor tolerancia a la salinidad, con valores que poco se diferencian de los mostrados por el cultivar tolerante.

Es de destacar cómo el cultivar INCA 9(1) caracterizado por su alto potencial de crecimiento, fue el más afectado, sobre todo cuando se le incrementó la concentración salina en el medio.

El análisis anterior, además de señalar a las variedades Amalia y P-73 como las más tolerantes, brinda la alternativa de que el cultivar INCA 9(1), de muy buen potencial de rendimiento, pueda emplearse en condiciones de suelo con contenidos salinos moderados.

## AGRADECIMIENTOS

- A la Fundación SENECA de Murcia y al CEBAS, por haber aportado la ayuda financiera, instalaciones y recursos materiales necesarios para la ejecución del trabajo.
- A la Dra. María del C. Bolarín, Dra. Marta Álvarez y Dra. María C. González, por facilitarnos el material vegetal y a M. D. Velasco y M. García, por su contribución en la determinación de algunas de las variables que aquí se exponen.

## REFERENCIAS

1. François, L. E. y Maas, E. V. Crop response and management on salt-affected soils. En: Handbook of Plant Crop Stress. New York : M. Marcel Dekker, Inc., 1994, pp. 149-181.
2. Szalboics, I. Soils and salinization. En: Handbook of Plant Crop Stress. New York : M. Marcel Dekker, Inc., 1994, p. 3-11.
3. Munns, R. y Rawson, H. M. Effect of salinity on salt accumulation and reproductive development in the apical meristem of wheat and barley. *Aust. J. Plant Physiol.*, 1999, vol. 26, p. 459-464.
4. Dubey, R. S. Photosynthesis in plants under stressful conditions. En: Handbook of Photosynthesis. New York : Marcel Dekker, 1997, p. 859-875.
5. Grieve, M. C.; Guzy, M. R.; Poss, J. A. y Shannon, M. C. Screening *Eucalyptus* clones for salt tolerance. *HortScience*, 1999, vol. 34, no. 5, p. 867-870.
6. Scholander, P. F.; Hammel, H. T.; Bradstreet, E. D. y Hemmingsen, E. A. Sap pressure in vascular plants. *Science*, 1965, vol. 148, p. 339-346.
7. Gucci, C.; Xiloyannis, J. A. Gas exchange parameters, water relations and carbohydrate partitioning in leaves of field-grown *Prunus domestica* following fruit removal. *Physiol. Plant.* 1991, vol. 83, p. 497-505.
8. Lutts, S.; Kinet, J. M. y Bouharmont, J. Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Plant Growth Regulation*, 1996, vol. 19, p. 207-218.
9. Rodríguez, P.; Dell'Amico, J.; Morales, D.; Sánchez-Blanco, M. J. y Alarcón, J. J. Effects of salinity on growth, shoot water relations and root hydraulic conductivity in tomato plants. *Journal of Agricultural Science*, 1997, vol. 128, p. 439-444.
10. Pardossi, A.; Malorgio, F.; Oriolo, D.; Gucci, R.; Serra, G. y Tognoni, F. Water relations and osmotic adjustment in *Apium graveolens* during long-term NaCl stress and subsequent relief. *Physiol. Plant.*, 1998, vol. 102, p. 369-376.
11. Zoppo, M. del; Galleschi, L.; Onnis, A.; Pardossi, A. y Saviozzi, F. Effect of salinity on water relations, sodium accumulation, chlorophyll content and proteolytic enzymes in a wild wheat. *Biologia Plantarum*, 1999, vol. 42, no. 1, p. 97-104.
12. Taiz, L. Plant cell expansion: Regulation of cell wall mechanical properties. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 1984, vol. 35, p. 585-657.
13. Herralde, F. de; Biel, C.; Savé, R.; Morales, M. A.; Torrecillas, A.; Alarcón, J. J. y Sánchez-Blanco, M. J. Effect of water and salt stresses on the growth, gas exchange and water relations in *Argyranthemum coronopifolium* plants. *Plant Science*, 1998, vol. 139, p. 9-17.
14. Ali, G.; Srivastava, P. S. e Iqbal, M. Proline accumulation, protein pattern and photosynthesis in *Bacopa monneira* regenerants grown under NaCl stress. *Biologia Plantarum*, 1999, vol. 42, no. 1, p. 89-95.
15. Sánchez-Blanco, M. J.; Bolarín, M. C.; Alarcón, J. J. y Torrecillas, A. Salinity effects on water relations in *Lycopersicon esculentum* and its wild salt-tolerant relative species *L. pennellii*. *Physiologia Plantarum*, 1991, vol. 83, p. 269-274.
16. González, H.; Justin, K. M. R.; Jordan, W. R. y Drew, M. C. Growth, water relations, and accumulation of organic and inorganic solutes in roots of maize seedlings during salt stress. *Plant Physiol.*, 1997, vol. 113, p. 881-893.
17. Delfine, S.; Alvino, A.; Villani, M. C. y Loreto, F. Restrictions to carbon dioxide conductance and photosynthesis in spinach leaves recovering from salt stress. *Plant Physiology*, 1999, vol. 119, p. 1101-1106.
18. Mäkelä P.; Kontturi, M.; Pehu, E. y Somersalo, S. Photosynthetic response of drought and salt-stressed tomato and turnip rape plants to foliar-applied glycinebetaine. *Physiologia Plantarum*, 1999, vol. 105, p. 45-50.
19. Alarcón, J. J.; Sánchez-Blanco, M. J.; Bolarín, M. C. y Torrecillas, A. Growth and osmotic adjustment of two tomato cultivars during and after saline stress. *Plant and Soil*, 1994, vol. 166, p. 73-82.
20. Katerji, N.; van Hoorn, J. W.; Hamdy, A.; Mastroilli, M. y Mou Karzel, E. Osmotic adjustment of sugar beets in response to soil salinity and its influence on stomatal conductance, growth and yield. *Agricultural Water Management*, 1997, vol. 34, p. 57-69.
21. Morant-Avice, A.; Pradierand, E. y Houchi, R. Osmotic adjustment in triticales grown in presence of NaCl. *Biologia Plantarum*, 1998, vol. 41, no. 2, p. 227-234.

Recibido: 3 de diciembre del 2001

Aceptado: 18 de febrero del 2002