
EFECTO DE IRRADIACIÓN LÁSER HE-NE Y EXPOSICIÓN A DIODOS EMISORES DE LUZ SOBRE EL CONTENIDO DE PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS EN PLÁNTULAS DE CHILE POBLANO (*Capsicum annuum*)

Alejandra María Moreno Jiménez, Sofía Loza Cornejo y Martín Ortiz Morales

RESUMEN

Los pigmentos fotosintéticos son compuestos con capacidad de absorber energía de la luz solar y hacerla disponible para el aparato fotosintético; son responsables, además, de la coloración y propiedades de órganos vegetales. El chile (*Capsicum annuum* L.) es un recurso fitogenético de México con gran importancia a nivel mundial. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del láser He-Ne y diodos emisores de luz (LEDs), sobre el contenido de pigmentos fotosintéticos (clorofila a (Chl a), clorofila b (Chl b), clorofila total (Chl T) y carotenoides (CAR)) en plántulas de chile poblano. Las semillas fueron irradiadas con un láser He-Ne con dosis de 0, 30, 60 y 120s; adicionalmente, se expusieron a luz LED de distinta longitud de onda: blanco, azul, rojo, así como luz fluorescente

como control, durante 30 días; posteriormente, las plántulas se mantuvieron en invernadero hasta los 120 días. Se aplicó un diseño experimental completamente al azar, análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($P < 0,05$). Las plántulas tratadas con 60s de irradiación y luz azul presentaron el mayor contenido de pigmentos fotosintéticos (25,86 y 3,53mg·g⁻¹ para Chl T y CAR, respectivamente); mientras que las plántulas sin irradiar y luz fluorescente (control), presentaron los valores más bajos. Se concluye que el tratamiento con láser He-Ne, en particular a dosis de 60s, combinado con exposición bajo LEDs en el espectro de luz azul, favorece la producción de pigmentos fotosintéticos en plántulas de *Capsicum annuum* var. poblano.

Introducción

La luz es el atributo más importante del ambiente natural, ya que es una condición necesaria para la fotosíntesis, proceso que determina los rasgos característicos de la estructura y fisiología de los organismos vegetales (De las Rivas, 2013). Como conjunto de ondas electromagnéticas, la luz o radiación luminosa ocupa un segmento pequeño del espectro, de 400 a 700nm, entre las radiaciones ultravioletas y las infrarrojas, constituyendo la llamada radiación fotosintéticamente activa (PAR). Por su parte, el espectro de luz visible está constituido por el conjunto de todas las radia-

ciones luminosas de distinto color: violeta, azul y verde (400-520nm), verdes, amarillas y anaranjadas (520-610nm) y rojas (610-720nm) (Singh *et al.*, 2015). Las plantas en fases vegetativa y reproductiva utilizan clorofila y carotenoides como sensores para capturar la luz; mientras que en la fase germinativa los fitocromos presentes en el endospermo y el embrión de la semilla, son las moléculas encargadas de captar la radiación luminosa (Johkan *et al.*, 2012; Demotes-Mainarda *et al.*, 2016). Las plantas son sensibles a la intensidad de la luz, su composición espectral y la alternancia de periodos de luz y oscuridad. La aplicación de mé-

todos físicos como el láser He-Ne y diodos emisores de luz (LEDs), constituyen técnicas no invasivas, capaces de aumentar la germinación de las semillas y mejorar el crecimiento y metabolismo de las plantas (Galvão y Fankhauser, 2015; Hernández-Aguilar *et al.*, 2016; Jensen *et al.*, 2018). La influencia de la irradiación láser en las plantas está probablemente relacionada con la emisión de luz, efectos electromagnéticos y activación de fotorreceptores, modulando así distintos aspectos en la germinación de semillas, crecimiento y desarrollo de plántulas y plantas de interés agronómico (Asghar *et al.*, 2017). Uno de los efectos positivos de la bio-

estimulación con láser es la mayor concentración de pigmentos fotosintéticos en las hojas, como un indicador de la estimulación de los procesos bioquímicos y fisiológicos de las plantas (Hernández *et al.*, 2010; Muthusamy *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2012; Abu y Tuleukhanov, 2013; Hernández-Aguilar *et al.*, 2016; Swathy *et al.*, 2016; Abbas *et al.*, 2017).

En comparación con lámparas tradicionales, las características mejoradas de los LEDs incluyen vida larga, alta eficiencia, tamaño pequeño, menor radiación térmica, así como un alto rendimiento (Macias *et al.*, 2012; Saavedra *et al.*, 2016). El LED es un dispositivo semi-

PALABRAS CLAVE / *Capsicum annuum* / Irradiación Láser / LEDs / Pigmentos Fotosintéticos /

Recibido: 10/06/2017. Modificado: 09/06/2018. Aceptado: 12/06/2018.

Alejandra María Moreno Jiménez. Ingeniera Bioquímica y Maestra en Ciencia y Tecnología, Universidad de Guadalajara, Jalisco, México.
Sofía Loza Cornejo. Bióloga, Universidad de Guadalajara, México. Maestra y Doctora en

Ciencias en Botánica, Colegio de Postgraduados, México. Profesora Investigadora, Universidad de Guadalajara (UdeG), México. Dirección: División de Estudios de la Biodiversidad e Innovación Tecnológica, Centro Universi-

tario de los Lagos, UdeG. Enrique Díaz de León #1144, Col. Paseos de la Montaña, Lagos de Moreno, Jalisco, México. C.P. 47460. e-mail: sophy_1970@hotmail.com
Martín Ortiz Morales. Ingeniero en Comunicaciones y

Electrónica, Universidad Autónoma de Zacatecas, México. Maestro en Ciencias en Óptica, Centro de Investigaciones en Óptica, México. Doctor en Ciencias en Ingeniería, Instituto Tecnológico de Aguascalientes, México.

EFFECT OF HE-NE LASER IRRADIATION AND EXPOSURE TO LIGHT EMITTING DIODES ON THE PHOTOSYNTHETIC PIGMENT CONTENT OF *Capsicum annuum*

Alejandra María Moreno Jiménez, Sofía Loza Cornejo and Martín Ortiz Morales

SUMMARY

Photosynthetic pigments are compounds with the ability to absorb energy from sunlight and make it available for the plant photosynthetic apparatus. In addition, they are responsible for the coloration and properties of plant organs. Pepper (*Capsicum annuum* L.) is a phytogetic resource of Mexico of great importance at world level. The aim of this study was to evaluate the effect of the He-Ne laser and light-emitting diodes (LEDs) on the content of photosynthetic pigments (chlorophyll a (Chl a), chlorophyll b (Chl b), total chlorophyll (Chl T) and carotenoids (CAR)) in poblano pepper seedlings. The seeds were irradiated with a He-Ne laser at doses of 0, 30, 60 and 120s. Additionally, they were exposed to LED light of different wavelengths: white,

blue, red and fluorescent light as control, during 30 days and later they were kept in greenhouse for 120 days. A completely randomized experimental design, an analysis of variance and Tukey's multiple comparisons test ($P < 0.05$) were applied. Seedlings treated with 60s of irradiation and stimulated with blue light had the highest content of photosynthetic pigments (25.86 and 3.53mg·g⁻¹ for Chl T and CAR, respectively). While non-irradiated seedlings and fluorescent light (control), had the lowest values. It is concluded that the treatment with He-Ne laser, in particular at doses of 60s, combined with exposure under LEDs in the blue light spectrum, stimulate the production of photosynthetic pigments in *Capsicum annuum* var. poblano.

EFEITO DE IRRADIAÇÃO LASER HENE E EXPOSIÇÃO A DIODOS EMISSORES DE LUZ SOBRE O CONTEÚDO DE PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS EM PLÂNTULAS DE PIMENTA POBLANO (*Capsicum annuum*)

Alejandra María Moreno Jiménez, Sofía Loza Cornejo e Martín Ortiz Morales

RESUMO

Os pigmentos fotossintéticos são compostos com capacidade de absorver energia da luz solar e torná-la disponível para o aparato fotossintético; são responsáveis, também, da coloração e propriedades de órgãos vegetais. A pimenta (*Capsicum annuum* L.) é um recurso fitogenético do México de grande importância em nível mundial. O objetivo de este estudo foi avaliar o efeito do laser HeNe e diodos emissores de luz (LEDs), sobre o conteúdo de pigmentos fotossintéticos (clorofila a (Chl a), clorofila b (Chl b), clorofila total (Chl T) e carotenóides (CAR)) em plântulas de pimenta poblano. As sementes foram irradiadas com laser HeNe em doses de 0, 30, 60 e 120s; adicionalmente, foram expostas à luz de LED de distintas longitudes de onda: branco, azul, vermelho, assim como de luz

fluorescente de controle, durante 30 dias; posteriormente, as plântulas foram mantidas em estufa por 120 dias. Aplicou-se um desenho experimental completamente aleatório, análise de variância e teste de comparações múltiplas de Tukey ($P < 0,05$). As plântulas tratadas com 60s de irradiação e luz azul apresentaram maior conteúdo de pigmentos fotossintéticos (25,86 e 3,53mg·g⁻¹ para Chl T e CAR, respectivamente); enquanto que as plântulas sem irradiar e luz fluorescente (controle), apresentaram os valores mais baixos. Conclui-se que o tratamento com laser HeNe, em particular a dose de 60s, combinado com exposição a LEDs no espectro de luz azul, favorece a produção de pigmentos fotossintéticos em plântulas de *Capsicum annuum* var. poblano.

conductor de estado sólido capaz de convertir la energía eléctrica en luz visible. Debido a que los LEDs producen luz en bandas estrechas de longitudes de onda, pueden utilizarse para generar colores en el espectro visible de azul a rojo y coincidir así con la mayoría de los receptores de las plantas encargados de llevar a cabo la fotosíntesis (Landis *et al.*, 2013; Bures *et al.*, 2018). Se han obtenido resultados importantes con ayuda de la radiación de luz LED como promotora de la germinación, crecimiento, fotomorfogénesis y formación de pigmentos fotosintéticos de las plântulas y plantas de diversas especies vegetales (Novičkovas *et al.*, 2012;

Samuolienė *et al.*, 2012; Xiao *et al.*, 2012; Paniagua *et al.*, 2015; Hernández y Kubota, 2016).

El chile o pimiento (*Capsicum annuum*) constituye una especie alimenticia importante debido a su contenido relativamente alto de varios nutrientes esenciales incluyendo la vitamina C y provitaminas A, E, P, B1, B2, y B3 (Loizzo *et al.*, 2015; Rizwani *et al.*, 2017). El pimiento es conocido, además, por su alta capacidad antioxidante; sus atractivos colores se deben a que contiene una variedad de pigmentos con participación importante en el proceso de eliminación de radicales libres y la influencia en la prevención de enfermedades del metabolismo y padecimien-

tos crónicos (Hyeon, 2008; Mendoza *et al.*, 2015).

Las plantas superiores utilizan clorofila y carotenoides para capturar la luz para la fotosíntesis; en este sentido, la bioestimulación de semillas y plântulas a través del tratamiento combinado de la irradiación con láser He-Ne y LEDs, además de ser novedoso, constituye una alternativa viable al emitir un espectro de irradiación favorable en cada etapa fenológica de la planta e incrementar así la concentración de pigmentos fotosintéticos y, por ende, mejorar el desarrollo de la planta y su fisiología. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto que ejercen el láser He-Ne y los LEDs sobre el

contenido de pigmentos fotosintéticos, clorofila a, clorofila b, clorofila total y carotenoides en *Capsicum annuum* L.

Material y Métodos

Las semillas de *Capsicum annuum*, var. Poblano se recolectaron a partir de los frutos en estado de madurez total, obtenidos de un expendio comercial de la región del Bajío, estado de Guanajuato, México. Dichos frutos provenían de un ciclo productivo entre noviembre 2014 y febrero 2015. Para la aplicación de los tratamientos pre-germinativos se separaron grupos de 50 semillas que estuvieran dentro de la categoría de índice de redondez de $0,85 \pm 0,02$ mm y con un peso

promedio de $10,4 \pm 0,01\text{mg}$, con el fin de tener muestras homogéneas para las distintas pruebas experimentales.

Etapa 1. Condiciones de laboratorio

Para el tratamiento de las semillas se empleó un láser de He-Ne (Mod. 1135P; JDS Uniphase Corp., EEUU) de 10mW de potencia y una longitud de onda de 632,8nm. La distancia de separación entre la fuente de luz y la semilla fue 21cm y expandiendo el haz se forma una mancha de luz de $3,8\text{cm}^2$, obteniéndose una densidad de potencia de $2,63\text{mW}\cdot\text{cm}^{-2}$. El diseño experimental fue completamente al azar, con tres repeticiones de 50 semillas por unidad experimental (Prošba-Biańczyk *et al.*, 2013; Koksál *et al.*, 2015). Las semillas se irradiaron durante periodos de exposición de 30, 60 y 120s, seleccionados a partir de estudios previos de fotosensibilidad (Costilla-Hermosillo, 2011; Ramos-Gómez *et al.*, 2015). Se utilizaron semillas no irradiadas como control. Después de irradiadas, las semillas se desinfectaron con hipoclorito de sodio comercial al 10% y captan al 5% (González, 2003; González *et al.*, 2015) con la finalidad de reducir el riesgo de contaminación fúngica. Posterior a la desinfección, las semillas se sembraron sobre papel filtro Whatman N° 2 humedecido con agua destilada, en cajas Petri estériles.

Enseguida, las semillas se sometieron a un tratamiento de luces LEDs: luz azul ($78\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), luz roja ($40\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) y luz blanca ($98\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), además del control (luz fluorescente; $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), con un fotoperiodo de 11h de luz y 13h de oscuridad por 30 días. La temperatura y humedad relativa se registraron con un higrotermógrafo portátil (Control Company, EEUU) y tuvieron un promedio de $24,4^\circ\text{C}$ y $35,8\%$, respectivamente.

Una vez germinadas, las plántulas se sembraron en semilleros de plástico de $27\times 53\text{cm}$, con 98 cavidades de 4cm de profundidad. Se utilizó un

sustrato de cultivo multiusos (PRO-MIX, México), el cual contiene una combinación de musgo de turba de *Sphagnum* canadiense (80-90%), perlita, piedra caliza (para ajuste de pH) y agente humectante. Los semilleros con las plántulas de 15 días de edad (con los cotiledones ya desarrollados), se sometieron de nuevo a los tratamientos de luz LED azul, roja y blanca, además del control con luz fluorescente. El fotoperiodo utilizado fue de 11h de luz y 13h de oscuridad por 30 días, similar a lo reportado por Xiao *et al.* (2011).

Para los experimentos de cultivo y crecimiento, se utilizaron LEDs blancos, azules, y rojos (SMD 5050, HR16; JACH Iluminación, México), y luz fluorescente (F-7EM; VOLTECH, México). Seis focos de cada uno de los tratamientos fueron colocados en cámaras de germinación de $60\times 30\times 25\text{cm}$. Para el crecimiento de las plántulas se emplearon 15 focos de cada tipo de luz colocados en anaqueles de $85\times 60\times 30\text{cm}$. Los accesorios luminosos se instalaron a 17cm de la parte superior de la muestra (semillas o plántulas) y la distancia se mantuvo ajustando la altura de los focos durante todo el experimento. La distribución rela-

tiva de la densidad espectral de flujo de fotones de cada uno de los tratamientos de luz (Figura 1), se midió con ayuda de un espectroradiómetro SIM-2 Plus (METRUE, EEUU) colocado a nivel de las muestras. Los datos registrados se graficaron de acuerdo a Jishi *et al.* (2016) y Matsuda *et al.* (2016).

Etapa 2. Condiciones de invernadero

Posterior al experimento en condiciones de laboratorio, los semilleros con las plántulas fueron trasladados a un invernadero para continuar su crecimiento hasta los 120 días. Durante ese periodo se hicieron dos muestreos, a los 60 y 120 días, con la finalidad de analizar la variación en el contenido de los pigmentos fotosintéticos. Para los muestreos se utilizaron tres hojas diferentes de cada tratamiento, cada hoja fue seleccionada a partir de su tamaño, solo se usaron hojas mayores a 2cm de longitud (De Swart, 2004).

Clorofila y carotenoides

La clorofila y los carotenoides fueron determinados según la técnica propuesta por Rodés y Collazo (2006), la cual consistió en tomar una muestra de tejido

(50mg) y realizar la extracción con acetona al 80%, triturando la muestra en un mortero de porcelana con 25 ml de solución. De acuerdo con Mackinney (1941) y Wettstein (1957), se realizaron lecturas de absorbancia (A) a 663nm, 645nm y 440,5nm, mediante un espectrofotómetro CARY 60 UV-Vis (AGILENT, EEUU). Los cálculos se realizaron con las siguientes ecuaciones:

$$\begin{aligned} \text{Chl a (mg}\cdot\text{l}^{-1}) &= 12,7 (A663) \\ &\quad - 2,69 (A645) \\ \text{Chl b (mg}\cdot\text{l}^{-1}) &= 22,9 (A645) \\ &\quad - 4,68 (A663) \\ \text{Chl T (mg}\cdot\text{l}^{-1}) &= (20,2 \cdot A645) \\ &\quad + (8,02 \cdot A663) \\ \text{CAR (mg}\cdot\text{l}^{-1}) &= 4,695 (A440,5) \\ &\quad - 0,268 (\text{Chl T}) \end{aligned}$$

y tomando en cuenta el peso fresco:

$$C = (C_1 \cdot V) / P$$

donde C: contenido de pigmento (mg/g); C_1 : concentración de clorofila a, b, total o carotenoides ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) obtenidas en las ecuaciones; V: volumen del extracto (lit); y P: peso de la muestra (g).

Análisis estadístico

Para examinar las diferencias entre los tratamientos, se determinaron los parámetros de estadística descriptiva, pruebas de comparaciones múltiples de Tukey ($P < 0,05$) y análisis de varianza (Tabla I). Se utilizó el programa de análisis estadístico SAS, mediante los procedimientos MEANS y GLM (SAS, 2002).

Resultados y Discusión

La radiación luminosa de plántulas de chile poblano tuvo un efecto positivo sobre la concentración de clorofila y carotenoides y mostró diferencias estadísticas significativas ($P < 0,05$), comparado con el control (Tabla I). Particularmente, la luz azul destacó por inducir un incremento tanto en el contenido total de clorofila (Chl a y Chl b), como en el de carotenoides (Figuras 2, 3 y 4). En la

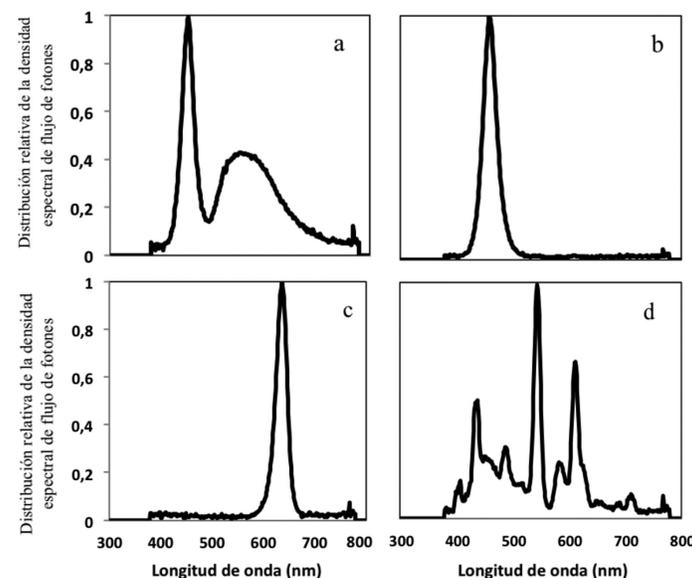


Figura 1. Distribución relativa de la densidad espectral de flujo de fotones en los tratamientos de luz; LED blanca (a), LED azul (b), LED roja (c) y fluorescente (d).

TABLA I
ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS DE IRRADIACIÓN
LÁSER He-Ne Y LEDS SOBRE EL CONTENIDO DE PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS
EN PLÁNTULAS DE *Capsicum annuum* L. var. Poblano

FV	GL	SC	CM	F cal	P>F
<u>Clorofila a</u>					
Dosis de irradiación (IRR)	3	42,5557467	14,1852489	26,51	<0,0001
Tratamientos de luz (LUZ)	3	200,0429139	66,6809713	124,64	<0,0001
Etapas (ET)	2	133,3911710	66,6955855	124,67	<0,0001
IRR*LUZ	9	119,0393040	13,2265893	24,72	<0,0001
IRR*ET	6	102,2378597	17,0396433	31,85	<0,0001
LUZ*ET	6	220,1443272	36,6907212	68,58	<0,0001
IRR*LUZ*ET	18	332,2844790	18,4602488	34,51	<0,0001
Error	96	51,359774	0,534998		
Total	143	1201,055576			
DHS (Tukey)			0,4508		
<u>Clorofila b</u>					
Dosis de irradiación (IRR)	3	6,20424280	2,06808093	24,79	<0,0001
Tratamientos de luz (LUZ)	3	28,05477751	9,35159250	112,10	<0,0001
Etapas (ET)	2	17,67611011	8,83805506	105,94	<0,0001
IRR*LUZ	9	16,67764333	1,85307148	22,21	<0,0001
IRR*ET	6	14,59127380	2,43187897	29,15	<0,0001
LUZ*ET	6	29,69094797	4,94849133	59,32	<0,0001
IRR*LUZ*ET	18	45,21336902	2,51185383	30,11	<0,0001
Error	96	8,0087701	0,0834247		
Total	143	166,1171346			
DHS (Tukey)			0,178		
<u>Clorofila total</u>					
Dosis de irradiación (IRR)	3	81,1914660	27,0638220	27,02	<0,0001
Tratamientos de luz (LUZ)	3	377,5929838	125,8643279	125,66	<0,0001
Etapas (ET)	2	247,6983553	123,8491777	123,65	<0,0001
IRR*LUZ	9	224,5502676	24,9500297	24,91	<0,0001
IRR*ET	6	194,0066080	32,3344347	32,28	<0,0001
LUZ*ET	6	409,1538663	68,1923111	68,08	<0,0001
IRR*LUZ*ET	18	622,1102904	34,5616828	34,51	<0,0001
Error	96	96,154478	1,001609		
Total	143	2252,458316			
DHS (Tukey)			0,6168		
<u>Carotenoides</u>					
Dosis de irradiación (IRR)	3	1,41014678	0,47004893	29,11	<0,0001
Tratamientos de luz (LUZ)	3	7,85560479	2,61853493	162,17	<0,0001
Etapas (ET)	2	4,26124677	2,13062339	131,95	<0,0001
IRR*LUZ	9	4,38897545	0,48766394	30,20	<0,0001
IRR*ET	6	3,63554723	0,60592454	37,53	<0,0001
LUZ*ET	6	7,72510022	1,28751670	79,74	<0,0001
IRR*LUZ*ET	18	11,92918185	0,66273232	41,04	<0,0001
Error	96	1,55010338	0,01614691		
Total	143	42,75590647			
DHS (Tukey)			0,0783		

FV: fuentes de variación, GL: grados de libertad, SC: suma de cuadrados, CM: cuadrado medio, F cal: F calculada, P>F: probabilidad de F, DHS: diferencia mínima significativa de Tukey.

primera etapa del experimento (condiciones de laboratorio), la proporción del contenido de clorofila a fue mayor que el contenido de clorofila b (Figura 2a). La luz azul promovió la concentración de las clorofilas y los carotenoides en mayor proporción, destacando la dosis de 60s de irradiación láser como la más favorecedora (25,86mg·g⁻¹ de Chl T), superior a los demás tratamientos; en contraste, la luz fluores-

cente (control) presentó los valores más bajos, 0,58mg·g⁻¹ de Chl T (Figura 2b).

Similar a la etapa anterior, el contenido de clorofila a en las plántulas del chile sigue siendo mayor que el contenido de clorofila b en la mayoría de los tratamientos, con excepción de las dosis de 0 y 30s de irradiación láser con luz fluorescente, en los que la clorofila b se presentó en cantidades relativamente mayores

que el contenido de clorofila a (Figura 3a). En condiciones de invernadero (etapa 2 del experimento), el tratamiento de 60s de irradiación con luz azul mostró los valores más altos, aunque éstos fueron menores en un 93% en comparación con la etapa anterior; la luz blanca influyó en un contenido elevado de pigmentos, similar al de la luz azul (Figuras 3a, b). Los efectos de la luz roja y luz fluorescente

se mantuvieron estables y sin diferencias estadísticas significativas entre las dosis de irradiación láser; resultand ser los tratamientos menos favorecedores (Figuras 3a, b).

Al finalizar la etapa en invernadero, los resultados mostraron un incremento en el contenido de pigmentos fotosintéticos, en comparación con los valores obtenidos a los 60 días, pero sin alcanzar los valores registrados en condiciones de laboratorio, donde el contenido de pigmentos alcanzó su nivel máximo (Figura 2). Nuevamente, la luz azul destaca como el mejor tratamiento, seguida de la luz blanca, incluyendo en ambos casos a las plántulas provenientes de los tiempos de irradiación de 60 y 120s como las más beneficiadas. Por otro lado, para el tratamiento con luz roja y el control no se observó una respuesta favorable en relación al contenido de clorofila a, b (Figura 4a), clorofila total y carotenoides (Figura 4b).

La presente investigación se realizó en diferentes etapas de desarrollo de las plántulas bajo condiciones de laboratorio e invernadero, con el objetivo de establecer si existen diferencias en la concentración pigmentos fotosintéticos en relación a la estimulación de las semillas por irradiación con láser y LEDs comparado con un control (sin irradiación, bajo luz fluorescente). Las plantas responden de diferente manera a la luz visible de longitudes de onda específica, mediante la activación de fitocromos específicos involucrados en procesos fotosintéticos responsables del crecimiento. La tecnología LED presenta una serie de ventajas, siendo una de ellas la posibilidad de optimizar los espectros de iluminación seleccionando longitudes de onda de luz específicas (Hogewoning *et al.*, 2010; Landis *et al.*, 2013). También hay estudios acerca del efecto de la bioestimulación láser en las plantas, particularmente sobre la germinación de las semillas, crecimiento, calidad e incluso rendimiento (Osman *et al.*, 2009;

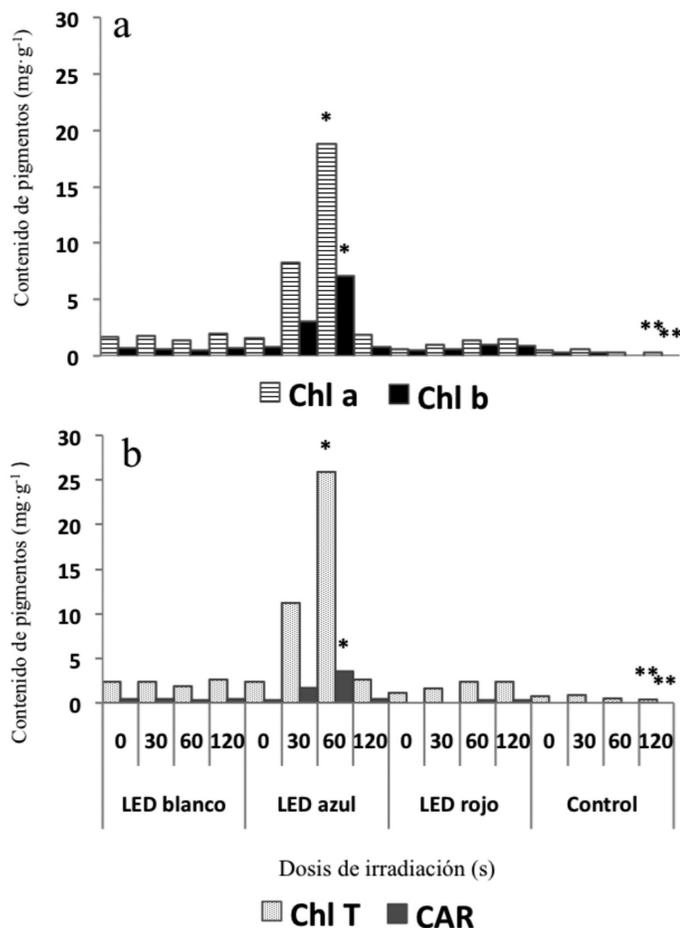


Figura 2. Efecto de diferentes dosis de irradiación láser He-Ne sobre el contenido de pigmentos fotosintéticos (a: clorofila a y b, b: clorofila total y carotenoides) en plántulas de *Capsicum annuum* var. Poblano, crecidas bajo exposición a diodos emisores de luz (LEDs). Cero días después del periodo de exposición a la luz. Los asteriscos indican valores máximos (*) y mínimos (**) de acuerdo con diferencias estadísticas significativas (Tukey; $P < 0,05$).

Perveen *et al.*, 2010; Gładyszewska, 2011). Sin embargo, a la fecha poco se sabe sobre el efecto que ejerce el tratamiento con láser He-Ne combinado con diodos emisores de luz (LEDs) en la producción de pigmentos fotosintéticos en plántulas de *Capsicum annuum* var. poblano.

Se registraron valores relativamente altos de concentración de clorofila total y carotenoides durante toda la temporada de crecimiento de este cultivar (particularmente en las plantas provenientes de las semillas tratadas con 60s de láser y tratadas con LEDs azules). Algunos autores mencionan que la radiación láser tiene un efecto positivo sobre el metabolismo de las plantas.

Chen *et al.* (2005), por ejemplo, demostraron que el tratamiento pre-germinativo con láser induce cambios significativos en algunos parámetros bioquímicos y fisiológicos en plántulas de *Isatis indogotica*. De acuerdo a estos autores, el tratamiento de las semillas con láser produjo un aumento del 44% en la concentración total de clorofila en comparación con las plantas no fotoestimuladas. En otro estudio (Sacala *et al.*, 2012), se encontró que el mayor incremento en el contenido de clorofila total de la remolacha azucarera alcanzó 15% en comparación con el control. Podleśny (2002) observó un efecto positivo de la bioestimulación láser en algunos parámetros fisiológicos

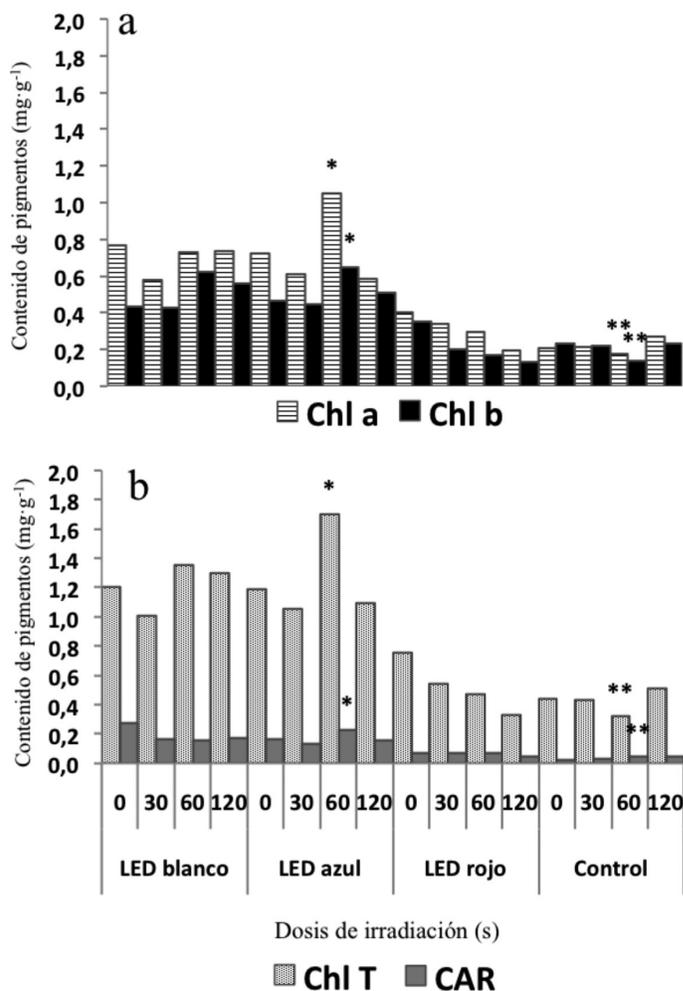


Figura 3. Efecto de diferentes dosis de irradiación láser He-Ne sobre el contenido de pigmentos fotosintéticos (a: clorofila a y b, b: clorofila total y carotenoides) en plántulas de *Capsicum annuum* var. Poblano, crecidas bajo exposición a diodos emisores de luz (LEDs). 60 días después del periodo de exposición a la luz. Los asteriscos indican valores máximos (*) y mínimos (**) de acuerdo con diferencias estadísticas significativas (Tukey; $P < 0,05$).

lógicos y morfológicos de las plantas de haba (*Vicia faba*). En contraste, otras investigaciones (Hernández *et al.*, 2009) demostraron que la estimulación con láser de las semillas puede afectar negativamente la concentración de clorofila a en las hojas de maíz. Por otro lado, Yanagi *et al.* (1996) demostraron los efectos positivos de la luz azul, ya que activa el sistema criptocromo, lo cual hace coincidir los espectros de absorción de clorofila y carotenoides, mejorando de esta forma, la fotosíntesis y el crecimiento. Por otro lado, los LEDs azules (440-476 nm),

solos o en combinación con LEDs rojos, influyeron en una mayor concentración de clorofila en las plantas de col china, de acuerdo a Mizuno *et al.* (2011) y Li *et al.* (2012). Resultados similares han sido obtenidos en diversos estudios (Lefsrud *et al.*, 2008; Li y Kubota 2009; Stutte *et al.*, 2009; Samuolienė *et al.*, 2012) en los que se utilizó luz azul suplementaria de LEDs, mediante la cual se estimuló un aumento en el contenido de pigmentos fotosintéticos.

Los resultados de la presente investigación mostraron que los parámetros examinados, contenido de clorofila y carotenoides,

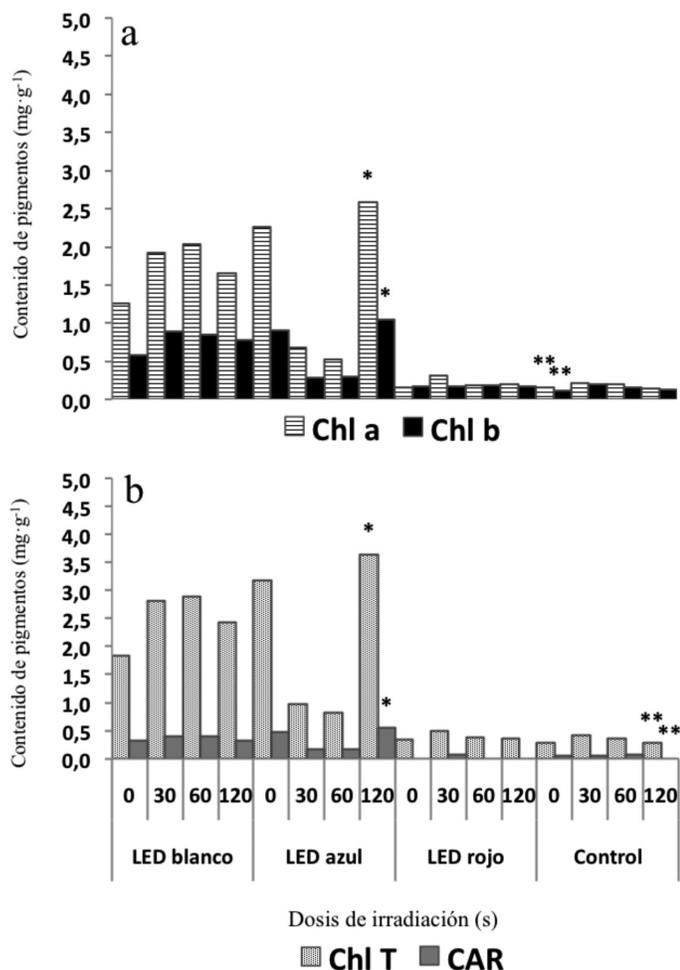


Figura 4. Efecto de diferentes dosis de irradiación láser He-Ne sobre el contenido de pigmentos fotosintéticos (a: clorofila a y b; b: clorofila total y carotenoides) en plántulas de *Capsicum annuum* var. Poblano, crecidas bajo exposición a diodos emisores de luz (LEDs). 120 días después del periodo de exposición a la luz. Los asteriscos indican valores máximos (*) y mínimos (**) de acuerdo con diferencias estadísticas significativas (Tukey; P<0,05).

fueron variables durante el crecimiento de las plántulas de chile poblano; sin embargo, el efecto positivo tanto de la irradiación con láser He-Ne, así como la exposición a los diodos emisores de luz fue notorio. Se puede suponer, además, que los efectos de la bioestimulación combinada se presentan en todas las etapas del desarrollo de las plantas, pero son especialmente evidentes en la fase temprana del crecimiento. En la primera etapa, se muestran los valores más altos de toda la fase experimental gracias al efecto inmediato que otorgan los tratamientos de luz, los que van disminuyendo con la aclimatación de las plantas a condiciones de luz natural.

Conclusiones

El contenido de pigmentos fotosintéticos de *Capsicum annuum* L. aumentó con el tratamiento de 60s de irradiación láser He-Ne.

La luz LED azul tuvo un efecto benéfico sobre la concentración de pigmentos (clorofila y carotenoides) de las plántulas de chile poblano.

La combinación de dosis bajas de láser He-Ne con luz LED azul (460nm), representa el mejor tratamiento para inducir la expresión de clorofila a, clorofila b, clorofila total y carotenoides en plántulas de chile poblano, tanto en condiciones de laboratorio como en invernadero, mostrando en esta

etapa final un incremento de 203,7% para clorofila total y 166,7% para carotenoides, respecto al control.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada a la primera autora para Maestría en Ciencia y Tecnología en el Centro Universitario de los Lagos de la Universidad de Guadalajara, y al Laboratorio de Aplicaciones de Láseres del Centro de Investigaciones en Óptica (CIO), Unidad Aguascalientes, México.

REFERENCIAS

Abbas M, Arshad M, Nisar N, Nisar J, Ghaffar A, Nazir A, Asif TM, Iqbal M (2017) Musculage characterization, biochemical and enzymatic activities of laser irradiated *Lagenaria siceraria* seedlings. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 173: 344-352.

Abu EAM, Tuleukhanov ST (2013) Can He-Ne laser induce changes in oxidative stress and antioxidant activities of wheat cultivars from Kazakhstan and Egypt? *J. Ecol. Health Environ.* 1: 1-11.

Asghar T, Iqbal M, Jamil Y, Zia-ul-Haq, Nisar J, Shahid M (2017) comparison of He-Ne laser sinusoidal non-uniform magnetic field seed pre-sowing treatment effect on *Glycine max* (Var 90-I) germination, growth and yield. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 166: 212-219.

Bures S, Urrestarazu GM, Kotiranta S (2018) Iluminación artificial en agricultura [on-line]. *Bibl. Hort.* <http://publicaciones.poscosecha.com/es/cultivo/395-iluminacion-artificial-enagricultura.html#>

Chen YP, Yue M, Wang XL (2005) Influence of He-Ne laser irradiation on seeds thermodynamic parameters and seedlings growth of *Isatis indogotica*. *Plant Sci.* 168: 601-606.

Costilla-Hermosillo MG (2011) Efecto de la aplicación de láser He-Ne sobre la propagación por semilla y crecimiento de plántulas de especies vegetales de importancia económica y ecológica. Tesis. Universidad de Guadalajara. 95 pp.

De las Rivas J (2013) La luz y el aparato fotosintético. En Azcon-Bieto J, Talón M (Eds.) *Fundamentos*

de Fisiología Vegetal. McGraw-Hill. México. pp. 165-190.

Demotes-Mainarda S, Pérona T, Corotb A, Berthelootta J, Le-Gourrierecb J, Pelleschi-Travierb S, Crespelb L, Morela P, Huché-Théliera L, Boumazab R, Vianb A, Guérina V, Leduch N, Sakrb S (2016) Plant responses to red and far-red lights, applications in horticulture. *Environ. Exp. Bot.* 121: 4-21.

De Swart EAM, Groenwold R, Kanne HJ, Stam P, Marcelis LFM, Voorrips RE (2004) Non-destructive estimation of leaf area for different plant ages and accessions of *Capsicum annuum* L. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 79: 764-770.

Galvão VC, Fankhauser C (2015) Sensing the light environment in plants: photoreceptors and early signaling steps. *Curr. Opin. Neurobiol.* 34: 46-53.

González AM, Moreno LS, Salcedo EMS, Pérez REC (2015) Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de extractos de agave (*Agave scabra*, Salm Dyck) sobre hongos postcosecha. *Phyton* 84: 427-434.

González AJ (2003) Desinfección de semilla de judía (*Phaseolus vulgaris* L.) tipo granja asturiana con antifúngicos y antibacterianos. *Bol. San. Veg. Plagas* 29: 461-470.

Gładyszewska B (2011). Estimation of a laser biostimulation dose. *Int. Agrophys.* 25: 403-405.

Hernández AC, Domínguez PA, Cruz OA, Ivanov R, Carballo CA, Zepeda BR, Galindo SL (2009) Laser irradiation effects on field performance of maize seed genotypes. *Int. Agrophys.* 23: 327-332.

Hernández AC, Domínguez PA, Cruz OA, Ivanov R, Carballo CA, Zepeda BR (2010) Laser in agriculture. *Int. Agrophys.* 24: 407-422.

Hernández-Aguilar C, Domínguez-Pacheco A, Cruz-Orea A, Podlešna A, Ivanov R, Carballo-Carballo A, Pérez-Reyes MC, Sánchez-Hernández G, Zepeda-Bautista R, López-Bonilla JL (2016) Bioestimulación láser en semillas y plantas. *Gayana Bot.* 73: 132-149.

Hernández R, Kubota C (2016) Physiological responses of cucumber seedlings under different blue and red photon flux ratios using LEDs. *Environ. Exp. Bot.*, 121: 66-74.

Hogewoning SW, Trouwborst G, Maljaars H, Poorter H, Leperen W, Harbinson J (2010) Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis*

- sativus* grown under different combinations of red and blue light. *J. Exp. Bot.* 61: 3107-3117.
- Hyeon S (2008) Antioxidant activities of red pepper (*Capsicum annuum*) pericarp and seed extracts. *Int. J. Food Sci. Technol.* 43: 1813-1823.
- Jensen NB, Clausena MR, Kjaera KH (2018) Spectral quality of supplemental LED grow light permanently alters stomatal functioning and chilling tolerance in basil (*Ocimum basilicum* L.). *Sci. Hort.* 227: 38-47.
- Jishi T, Kimura K, Matsuda R, Fujiwara K (2016) Effects of temporally shifted irradiation of blue and red LED light on cos lettuce growth and morphology. *Sci. Hort.* 198: 227-232.
- Johkan M, Shoji K, Goto F, Hahida S, Yoshihara T (2012) Effect of green light wavelength and intensity on photomorphogenesis and photosynthesis in *Lactuca sativa*. *Environ. Exp. Bot.* 75: 128-133.
- Koksal N, Incesu M, Teke A (2015) Supplemental LED lighting increases pansy growth. *Hortic. Bras.* 33: 428-433.
- Landis TD, Pinto JR, Dumroese RK (2013) Light-emitting diodes (LED): applications in forest and native plant nurseries. *Forest Nurs. Notes* 33: 5-13.
- Lefsrud MG, Kopsell DA, Sams CE (2008) Irradiance from distinct wavelength light-emitting diodes affect secondary metabolites in kale. *HortScience* 43: 2243-2244.
- Li Q, Kubota C (2009) Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce. *Environ. Exp. Bot.* 67: 59-64.
- Li H, Tang C, Xu Z, Liu X, Han X (2012) Effects of different light sources on the growth of non-heading chinese cabbage (*Brassica campestris* L.). *J. Agric. Sci.* 4: 262-273.
- Loizzo MR, Pugliese A, Bonesi M, Menichini F, Tundis R (2015) Evaluation of chemical profile and antioxidant activity of twenty cultivars from *Capsicum annuum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum chacoense* and *Capsicum chinense*: A comparison between fresh and processed peppers. *LWT - Food Sci. Technol* 64: 623-631.
- Macias HA, Ulianov Y, Ramos Y (2012) Illumination Benefits using LED high brightness bulb compare to traditional illumination systems. *IEEE Int. Symp. Alternative Energies and Energy Quality* (SIFAE). pp. 1-5.
- Mackinney G (1941) Absorption of light by chlorophyll solutions. *J. Biol. Chem.* 140: 315-322.
- Matsuda R, Yamano T, Murakami K, Fujiwara K (2016) Effects of spectral distribution and photosynthetic photon flux density for overnight LED light irradiation on tomato seedling growth and leaf injury. *Sci. Hort.* 198: 363-369.
- Mendoza SLG, Mendoza LMR, García BO, Azuara NE, Pascual PLA, Jiménez FM (2015) Physicochemical and antioxidant properties of jalapeño pepper (*Capsicum annuum* var. *annuum*) during storage. *Rev. Chapingo. Ser. Horticult.* 21: 229-241.
- Mizuno T, Amaki W, Watanabe H (2011) Effects of monochromatic light irradiation by LED on the growth and anthocyanin contents in leaves of cabbage seedlings. *Acta Hort.* 907: 179-184.
- Muthusamy A, Kudwa PP, Prabhu V, Mahato KK, Babu VS, Rao MR, Puthiya MG, Satyamoorthy K (2012) Influence of Helium-Neon laser irradiation on seed germination *in vitro* and physico-biochemical characters in seedlings of brinjal (*Solanum melongena* L.) var. *mattu gulla*. *Photochem. Photobiol.* 88: 1227-1235.
- Novičkovas A, Brazaitytė A, Duchovskis P, Jankauskienė J, Samuolienė G, Viršilė A, Sirtautas R, Bliznikas Z, Žukauskas A (2012) Solid-state lamps (LEDs) for the short-wavelength supplementary lighting in greenhouses: experimental results with cucumber. *Acta Hort.* 927: 723-730.
- Osman YAH, El Tobgy KMK, El Sherbini EA (2009) Effect of laser radiation treatments on growth, yield and chemical constituents of fennel and coriander plants. *J. Appl. Sci. Res.* 5: 244-252.
- Paniagua PG, Hernández AC, Rico MF, Domínguez PFA, Martínez OE, Martínez GCL (2015) Efecto de la luz LED de alta intensidad sobre la germinación y el crecimiento de plántulas de brócoli (*Brassica oleracea* L.). *Polibotánica* 40: 199-212.
- Perveen R, Ali Q, Ashraf M, Al-Qurainy F, Jamil Y, Raza AM (2010) Effects of different doses of low power continuous wave He-Ne laser radiation on some seed thermodynamic and germination parameters, and potential enzymes involved in seed germination of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Photochem. Photobiol.* 86: 1050-1055.
- Podleśny J (2002) Effect of laser irradiation on the biochemical changes in seeds and the accumulation of dry matter in the faba bean. *Int. Agrophys.* 16: 209-213.
- Prośba-Biały U, Szajsner H, Grzyo E, Demczuk A, Sacała E, Bak K (2013) Effect of seed stimulation on germination and sugar beet yield. *Int. Agrophys.* 27: 195-201.
- Ramos-Gómez BY, Loza-Cornejo S, Ortiz-Morales M (2015) Tratamiento pre-germinativo con láser He-Ne para favorecer crecimiento de plántulas de *Stenocactus multicostatus*. *Memorias XII Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia*. http://congresos.cio.mx/memorias_congreso_mujer/archivos/Memorias_2015.pdf
- Rizwani GH, Abbas K, Zahid H (2017) Prevention and treatment of different health problems by common people's diet (Haleem). *Afr. J. Food Sci.* 11(4): 82-94.
- Rodés GR, Collazo OM (2006) *Manual de Prácticas de Fotosíntesis*. Facultad de Ciencias, UNAM. México. pp. 15-21.
- Saavedra E, Rey FJ, Luyo J (2016) Lighting systems, current situation and perspectives. *Tecnica* 26(2): 44-62.
- Sacala E, Demczuk A, Grzyo E, Proeoba BU, Szajsner H (2012) Impact of presowing laser irradiation of seeds on sugar beet properties. *Int. Agrophys.* 26: 295-300.
- Samuolienė G, Brazaitytė A, Duchovskis P, Viršilė A, Jankauskienė J, Sirtautas R, Novičkovas A, Sakalauskiene S, Sakalauskaitė J (2012) Cultivation of vegetable transplants using solid-state lamps for the short-wavelength supplementary lighting in greenhouses. *Acta Hort.* 952: 885-892.
- SAS (2002) *Statistical Analysis System, User's Guide: Statistics. Ver. 9.1. 2^a ed.* SAS Institute Inc. Cary, NC, EEUU.
- Singh D, Basu C, Meinhardt-Wollweber M, Roth B (2015) LEDs for energy efficient greenhouse lighting. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 49: 139-147.
- Stutte GW, Edney S, Skerritt T (2009) Photoregulation of bioprotectant content of red leaf lettuce with light-emitting diodes. *HortScience* 44: 79-82.
- Swathy SP, Kiran KR, Rao MS, Mahato KK, Rao MR, Satyamoorthy K, Muthusamy A (2016) Responses of He-Ne laser irradiation on agronomical characters and chlorogenic acid content of brinjal (*Solanum melongena* L.) var. *Mattu Gulla*. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 164: 182-190.
- Wettstein D (1957) Chlorophyll letale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden. *Exp. Cell Res.* 12: 427-434.
- Xiao YL, Shi RG, Tao TC, Zhi GX, Tezuka T (2012) Regulation of the growth and photosynthesis of cherry tomato seedlings by different light irradiations of light emitting diodes (LED). *Afr. J. Biotechnol.* 11: 6169-6177.
- Xiao YL, Shi RG, Zhi GX, Xue LJ (2011) Regulation of chloroplast ultrastructure, cross-section anatomy of leaves, and morphology of stoma of cherry tomato by different light irradiations of light-emitting diodes. *Hort-Science* 46: 217-221.
- Yanagi T, Okamoto K, Takita S (1996) Effects of blue, red, and blue/red lights of two different PPF levels on growth and morphogenesis of lettuce plants. *Acta Hort.* 440: 117-122.
- Yang L, Han R, Sun Y (2012) Damage repair effect of He-Ne laser on wheat exposed to enhanced ultraviolet-B Radiation. *Plant Physiol. Biochem.* 57: 218-221.