

Estimulación del crecimiento del tallo en semillas de trigo (*Triticum Aestivum* L) por radiación láser de 660 nm

M. Hernández† y A. Michtchenko

Instituto Politécnico Nacional, SEPI-ESIME-Zacatenco, México, Distrito Federal;

mahernandezvi@ipn.mx†, amichtchenko@ipn.mx

†autor para la correspondencia

Recibido el 25/05/10. Aprobado en versión final el 12/11/10.

Sumario. El objetivo principal es el de profundizar en el estudio de los efectos de fotobioestimulación producidos por la luz láser roja de baja intensidad con $\lambda = 660$ nm sobre semillas de trigo (*Triticum Aestivum* L) cuando estas son radiadas de forma previa a su siembra con una fuente de luz láser. En diversos trabajos se han reportado algunos efectos de fotobioestimulación sobre diversos sistemas biológicos cuando se irradia con luz láser roja. En estos trabajos no se aclara la longitud de onda ni las condiciones bajo las cuales se llevó a cabo la experimentación, por lo que se pueden considerar como trabajos preliminares. Para la irradiación de las semillas de trigo se utilizó un láser semiconductor. Los resultados obtenidos muestran una aceleración en el crecimiento del tallo de las plántulas de trigo de aproximadamente 12% cuando éstas son irradiadas con luz láser con $\lambda = 660$ nm, una densidad de potencia de 15 mWcm^{-2} y un tiempo de exposición de 60s.

Abstract. The principal objective is to study the biostimulation effects caused by a semiconductor laser with low level laser radiation with $\lambda = 660$ nm on wheat seeds (*Triticum Aestivum* L). Seeds were treated before sowing with this laser light source. An increase in the growth of the stem of 12% with respect to control seeds was registered for seeds radiated with a power density of 15 mW/cm^2 and an irradiation time of 60 seconds.

Palabras clave. Laser radiation. Surface irradiation effects 61.80.Ba, Applications of Laser 42.62-b

1 Introducción *

El estudio de la luz sobre diversos sistemas biológicos se ha realizado desde hace décadas y actualmente existen muchas interrogantes acerca de las características que debe de tener la luz para poder producir los efectos de

fotobioestimulación^{2,3,4,5}.

Un tipo de luz que ha encontrado grandes aplicaciones en biología y medicina es la luz láser, ya que sus características la hacen viable para la investigación en el comportamiento de los efectos de fotobioestimulación, aunque existen otras fuentes de luz que son utilizadas para este mismo fin.

En diversos estudios realizados con diversas fuentes de luz, se ha observado que la longitud de onda λ y el nivel de monocromaticidad son determinantes para la aparición de los efectos de bioestimulación, mientras que la densidad de potencia I y tiempo de aplicación t deter-

Nota editorial: Aunque este artículo fue presentado originalmente en *Tecnolaser* 2009, no se pudo incluir en el número especial dedicado a la conferencia (vol. 27, 1, 2010). Su arbitraje ha sido exclusiva responsabilidad del Comité Organizador de *Tecnolaser*.

minan la magnitud de los efectos^{1,2,3,4,5}. Los láseres presentan la ventaja de que nos permiten aplicar dosis de luz altamente monocromática con intensidades mayores a las que se obtendrían mediante otras fuentes de luz como son las lámparas con filtros. Además para el caso de los diodos láser, la eficiencia está por encima de otras fuentes de luz.

En diversos estudios⁵⁻⁹ se ha observado que una correcta aplicación de esta radiación sobre semillas de importancia como el trigo, frijol, maíz o arroz, puede llevar a una aceleración en su crecimiento, mejorar el desarrollo de la planta así como el de sus frutos, mejorar la resistencia a enfermedades y aumentar la tasa de germinación. La aplicación de la radiación es requerida sólo una vez antes de la siembra, esto significa que los efectos provocados se mantienen aun después de haber retirado la fuente de radiación de las semillas. Las publicaciones existentes sobre los efectos de la luz láser en sistemas biológicos no realizan una investigación para encontrar los parámetros óptimos de la radiación que puedan llevar a obtener los efectos máximos de fotobioestimulación^{1,2}. Debido a lo anterior nuestro trabajo investiga los parámetros óptimos de la radiación láser con longitud de onda $\lambda = 660$ nm producida por un láser semiconductor para producir los efectos de estimulación máximos en el crecimiento del tallo de las semillas de trigo variedad Triunfo.

2. Materiales y método

Las semillas de trigo variedad Triunfo (*Triticum Aestivum L*) fueron proporcionadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias de México. Esta variedad de trigo fue desarrollada por el instituto antes mencionado y el Centro Internacional de Mejora de Maíz y Trigo (CIMMYT).

El láser semiconductor fue caracterizado antes de definir los tratamientos láser. Para medir la potencia del láser se procedió a utilizar una punta de potencia piroeléctrica modelo RjP735 conectada a un radiómetro piroeléctrico calibrado eléctricamente modelo Rs5900 de la compañía Laser Probe, USA. El patrón de radiación del láser semiconductor fue medido utilizando un sistema con fotodiodo desarrollado en el laboratorio. Debido a que la luz del láser semiconductor presentó una distribución de gauss, sólo el área central con variaciones de potencia del 10% con respecto a la potencia máxima fue considerada para la radiación de las semillas.

Para radiar las semillas de trigo se definieron 16 tratamientos láser. Los tratamientos definidos se muestran a continuación:

- Exposición a una densidad de potencia de 3.75mWcm^{-2} por cuatro tiempos diferentes de exposición: 15s (T1), 30s (T2), 60s (T3), 120s (T4).
- Exposición a una densidad de potencia de 7mWcm^{-2} por cuatro tiempos diferentes de exposición: 15s (T5), 30s (T6), 60s (T7), 120s (T8).

- Exposición a una densidad de potencia de 15mWcm^{-2} por cuatro tiempos diferentes de exposición: 15s (T9), 30s (T10), 60s (T11), 120s (T12).
- Exposición a una densidad de potencia de 30mWcm^{-2} por cuatro tiempos diferentes de exposición: 15s (T13), 30s (T14), 60s (T15), 120s (T16).

Gráfica de Correlación para $I=3.75\text{mW/cm}^2$ y $t=60$ seg

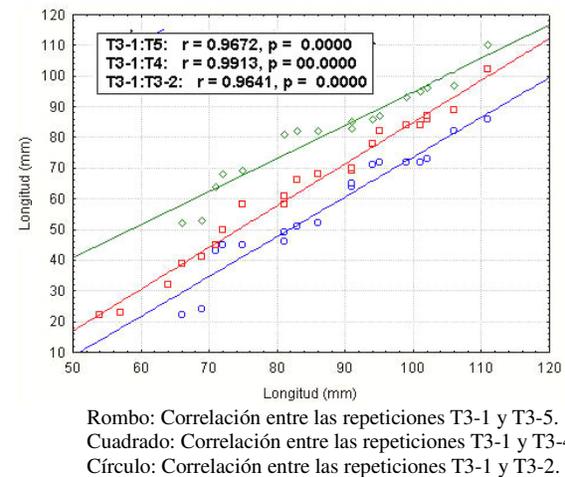


Figura 1. Gráfica de Correlación entre cuatro repeticiones T3-1 y T3-5, T3-1 y T3-4, T3-1 y T3-2 de las dieciséis consideradas para el tratamiento láser con densidad de potencia de 3.75mWcm^{-2} y tiempo de exposición a la radiación láser de 60s.

Correlación para $I=3.75\text{mW/cm}^2$, $t_1=15\text{seg}$ y $t_2=120\text{seg}$

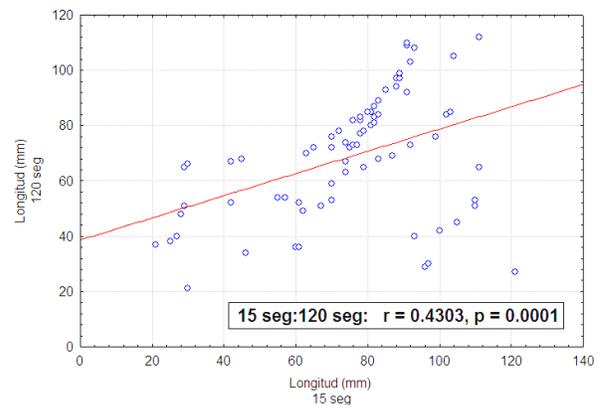


Figura 2. Gráfica de correlación para dos repeticiones seleccionadas aleatoriamente de los tratamientos láser T1 y T4 (correlación entre repeticiones de diferentes tratamientos).

Una vez definidos los tratamientos láser se procedieron a radiar las semillas de trigo variedad Triunfo. Cada tratamiento láser se aplicó a un grupo de 400 semillas divididas en 16 repeticiones con 25 semillas en cada una. Una vez tratadas las semillas se procedió a colocarlas sobre papel filtro en base a la norma internacional de la ISTA 2008 (International Seed Testing Association). Durante todo el periodo experimental sólo se utilizó agua destilada. Ningún otro químico fue utilizado con el agua

ni con las semillas; esto se hizo con el fin de evaluar sólo los efectos de la radiación láser sobre el crecimiento del tallo de las semillas de trigo.

Los grupos de semillas tratadas así como los respectivos controles fueron colocados de forma aleatoria dentro de una cámara de germinación con condiciones controladas. La temperatura dentro de la cámara de germinación fue de $20^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ y la humedad se mantuvo al $90\%\pm 2\%$.

El crecimiento del tallo se registró 10 días posteriores a la siembra sobre el papel filtro. Los datos de crecimiento obtenidos fueron analizados estadísticamente. Para detectar diferencias estadísticas entre las semillas tratadas y las semillas del control se llevaron a cabo pruebas de ANOVA y de Tukey. De igual forma se realizaron pruebas de correlación entre las repeticiones de los mismos tratamientos para comprobar el crecimiento uniforme de las semillas.

3 Resultados y discusión

La Figura 1 ejemplifica una gráfica de correlación entre cuatro repeticiones de las dieciséis repeticiones consideradas para el tratamiento láser con densidad de potencia de 3.75mW cm^{-2} y tiempo de exposición a la luz láser de 60s. Esta gráfica muestra la correlación entre las repeticiones T3-1 y T3-5, T3-1 y T3-4, T3-1 y T3-2. En esta gráfica se puede observar que el coeficiente de correlación (r) obtenido para éstas repeticiones tiene un valor próximo a uno, lo que significa que el tallo de las plántulas de trigo presentó el mismo crecimiento bajo las condiciones experimentales consideradas.

Es importante aclarar que los coeficientes de correlación así como las gráficas de correlación se calcularon para las dieciséis repeticiones de cada uno de los tratamientos láser aplicados. En todos los casos (comparación entre las repeticiones del mismo tratamiento) los coeficientes de correlación presentaron un valor promedio de $r = 0.9764$.

Una vez comparadas las repeticiones entre un mismo tratamiento, se procedió a comparar las repeticiones entre diferentes tratamientos. La Figura 2 muestra el coeficiente de correlación obtenido para dos repeticiones consideradas aleatoriamente de los tratamientos láser T1 y T4. De la Figura 2 se puede observar que el coeficiente de correlación tuvo un valor de $r = 0.4303$. Esto significa que el crecimiento de los tallos entre diferentes tratamientos difiere bajo las mismas condiciones experimentales y que éstas diferencias en el crecimiento son causadas por la radiación láser.

Una vez realizadas las pruebas de correlación se llevaron a cabo pruebas de ANOVA y Tukey entre los controles y los diferentes tratamientos en busca de diferencias significativas debidas a la radiación de las semillas con luz láser. Entre las repeticiones de los mismos tratamientos no se encontraron diferencias significativas.

La Figura 3 muestra los resultados obtenidos para los

tratamientos de las semillas de trigo T9, T10, T11, T12 y su respectivo control. En la figura es posible observar que el máximo efecto de estimulación se dio para el tratamiento T11 (tiempo de exposición de 60s) habiendo un desarrollo mayor del tallo con respecto al control de 12%. Al aplicar las pruebas de ANOVA y Tukey se detectó una diferencia significativa de $p < 0.001$. Esto significa que el efecto obtenido se debe a la radiación láser.

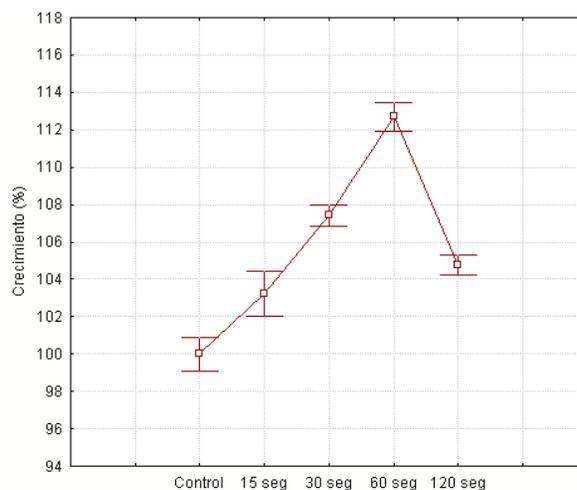


Figura 3. Gráfica del porcentaje de crecimiento para una intensidad de 15mWcm^{-2} y tiempos de exposición de 15s, 30s, 60s y 120 s.

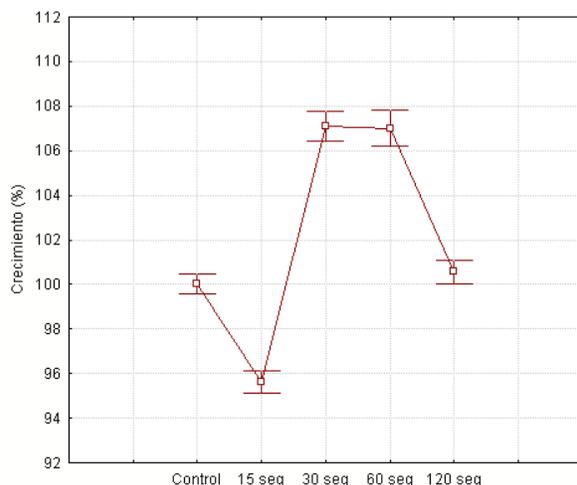


Figura 4 Gráfica del porcentaje de crecimiento para una intensidad de 30mWcm^{-2} y tiempos de exposición de 15, 30, 60 y 120 s.

La figura 4 muestra los resultados obtenidos para los tratamientos de las semillas de trigo T13, T14, T15, T16 y su respectivo control. De la figura es posible observar un efecto de estimulación máximo para los tratamientos T14 y T15 siendo la estimulación del 7% con respecto al nivel de control para ambos tratamientos. Tanto para el tratamiento T14 como para el tratamiento T15 se detectaron diferencias significativas de $p < 0.01$. Esto sig-

nifica que la estimulación obtenida se debe a la radiación láser aunque estos efectos no son tan significativos como para el caso del tratamiento T11.

Para los tratamientos T1, T2, T3, T4, T5, T6 T7 y T8 no se produjeron efectos de estimulación que fueran estadísticamente significativos con respecto al nivel de control.

4 Conclusiones

De los resultados obtenidos en la Figura 3 y en la Figura 4 es posible observar que la densidad de potencia y el tiempo de exposición a la radiación láser son parámetros importantes que determinan la activación del crecimiento del tallo de las semillas de trigo variedad Triunfo.

Es importante observar que la dosis no es un parámetro determinante para producir los efectos de estimulación en las semillas de trigo. Esto se puede observar para los tratamientos T10 y T13, T11 y T14, T12 y T15 los cuales presentan la misma dosis pero producen diferentes efectos en el crecimiento del tallo.

Los crecimientos más importantes fueron obtenidos para los tratamientos T11, T14 y T15. Los crecimientos obtenidos respecto al nivel del control fueron del 12% para el tratamiento T11 y del 7% para los tratamientos T14 y T15.

El tratamiento se aplicó antes de la siembra de las semillas una sola vez y es posible observar que los efectos de estimulación se mantienen y se manifiestan en las etapas iniciales del crecimiento de las plántulas.

Referencias

1. Shimizu-Sato S., Huq E., Tepperman J. M., Quail P. H., "A light switchable gene promoter system", *Nature Biotechnology*, Vol 20, pp.1041-1044 (2002).
2. Fankhauser C., "The Phytochromes a Family of red/far-red absorbing photoreceptors", *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 276, pp. 11453-11456 (2001).
3. Tiphlova O.A., Karu T.I., "Stimulation of Escherichia Coli Division by Low-Intensity Monochromatic Light", *Photochem. Photobiol.*, v.48, pp. 467-471 (1988).
4. Ouf S.A, Abdel-Handy N.F., "Influence of He-Ne Láser Irradiation of Soybean Seeds on Seed Mycoflora, Growth, Nodulation, and resistance to Fusarium solani", *Folia Microbiology*, vol. 44 , pp. 388-390 (1999).
5. Vasilevski G., Bosev D., "Results of the effect of the laser light on some vegetables", *Proc. First Balkan Symp.* pp. 473-479 (1989)
6. Sudha Rani G., Agrawal D. C., Rai K. P., Thakur S. N., "Physiological responses of Vigna radiata L. to nitrogen and argon laser irradiation", *Indian J. Plant Physiol.*, Vol. XXXIV, No. 1, pp. 72-76 (1991).
7. Sudha Rani G., Agrawal D. C., Rai K. P., Thakur S. N., "Growth responses of Vigna radiata seeds to laser irradiation UV-A region", *Physiol. Plant.*, vol 63, pp. 133-134, Copenhagen (1985).
8. Pilet P. E. and Golaz F., "Effect of white light on the growth of aseptically cultured maize roots", *Plant Science*, Elsevier Scientific Publishers Ireland Ltd., Vol. 38, pp. 115-119, (1999).
9. Plummer J.A., Bell D.T. , "Germination in Photosensitive Seeds: Does Phytochrome Stimulate Metabolism", *Plant Physiol.*, vol. 24, pp. 389-394 (1997).