



**INSTITUTO POLITÉCNICO
NACIONAL**



**ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA
MECÁNICA Y ELÉCTRICA**

**SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
CULHUACAN**

**“ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS EFECTOS DE
BIOESTIMULACIÓN PRODUCIDOS POR LUZ
LÁSER ROJA E INFRAROJA SOBRE SEMILLAS DE
TRIGO (*TRITICUM AESTIVUM L*)”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN COMUNICACIONES Y ELECTRÓNICA.**

**PRESENTA:
M. EN C. MAURICIO HERNÁNDEZ VIZUET.**

**ASESOR:
DR. ALEXANDRE MICHCHENKO**

México D.F. a 30 de Septiembre del 2011.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México siendo las 13:00 horas del día 10 del mes de Octubre del 2011 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de E.S.I.M.E CULHUACAN para examinar la tesis titulada:

ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS EFECTOS DE BIOESTIMULACIÓN PRODUCIDOS POR LUZ LÁSER ROJA E INFRARROJA SOBRE SEMILLAS DE TRIGO (TRITICUM AESTIVUM L).

Presentada por el alumno:

HERNANDEZ
Apellido paterno

VIZUET
Apellido materno

MAURICIO
Nombre(s)

Con registro:

B	0	7	1	8	4	8
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

DOCTORADO EN COMUNICACIONES Y ELECTRÓNICA

Después de intercambiar opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Director(a) de tesis

DR. ALEXANDRE MICHTCHENKO

Presidente

DR. HECTOR MANUEL PEREZ MEANA

Secretario

DR. VLADIMIR KAZAKOV

2do Vocal

DR. FERNANDO EDGAR KROTZSCH GOMEZ

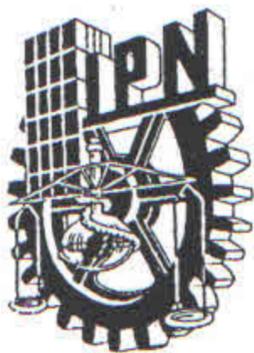
3er Vocal

DR. JUAN CARLOS SANCHEZ GARCÍA



PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

DR. GONZALO ISAAC DUCHEN SÁNCHEZ



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México el día 10 del mes Octubre del año 2011, el (la) que suscribe Mauricio Hernández Vizuet alumno (a) del Programa de Doctorado en Comunicaciones y Electrónica con número de registro B071848, adscrito a E.S.I.M.E CULHUACAN, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. Alexandre Michtchenko y cede los derechos del trabajo intitulado ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS EFECTOS DE BIOESTIMULACIÓN PRODUCIDOS POR LUZ LÁSER ROJA E INFRARROJA SOBRE SEMILLAS DE TRIGO (TRITICUM AESTIVUM L), al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección mahhhevi@hotmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.



Mauricio Hernández Vizuet
Nombre y firma

AGRADECIMIENTOS

A mi esposa: por apoyarme incondicionalmente en esta etapa de mi vida.

A mi hija: por darme la fortaleza para terminar.

A mi padre adoptivo: por hacerme lo que soy y estar siempre conmigo.

A mi asesor: por darme la oportunidad de continuar preparándome.

A mis maestros: por su apoyo y por los conocimientos que me aportaron.

A mis amigos: que estuvieron junto a mí para escucharme y comprenderme.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
OBJETIVOS	3
PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	4
JUSTIFICACIÓN	5
DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	7
GLOSARIO	9
CAPÍTULO 1 – ANTECEDENTES Y ESTADO DEL ARTE	10
1.1 Láseres	11
1.2 Diodo láser	12
1.2.1 Dispositivos Semiconductores	12
1.2.2 Bloques básicos de construcción de los Dispositivos Semiconductores	13
1.2.3 Materiales semiconductores	15
1.2.4 Semiconductores de un solo elemento	15
1.2.5 Semiconductores compuestos	16
1.2.6 Diodos láser	18
1.3 Fotodiodo	20
1.4 Efectos de estimulación en las plantas	22
1.4.1 Moléculas especializadas: los fitocromos	22
1.4.2 Efectos de estimulación por moléculas no especializadas ...	23
1.5 Efectos de estimulación en semillas de diferentes especies	24
1.6 Efectos de estimulación en semillas de trigo	26
CAPÍTULO 2 – DISEÑO DE LOS SISTEMAS LÁSER	28
2.1 Introducción	29
2.2 Diseño de la fuente de alimentación	30
2.2.1 Circuito de alimentación de los diodos láser que incorpora un termistor para controlar la potencia óptica de salida	33

2.2.2 Circuito de alimentación de los diodos láser utilizando un arreglo de diodos en serie en la base de un transistor.....	34
2.2.3 Circuito de alimentación de los diodos láser utilizando el coeficiente de temperatura negativo de las uniones base-emisor de dos transistores.....	35
CAPÍTULO 3 – MATERIALES Y MÉTODOS UTILIZADOS EN LA EXPERIMENTACIÓN CON SEMILLAS DE TRIGO.....	38
3.1 El trigo (<i>Triticum aestivum L.</i>).....	39
3.2 Tratamientos láser.....	40
3.3 Pruebas de germinación y crecimiento.....	42
3.4 Análisis estadístico.....	43
3.4.1 Pruebas de germinación.....	43
3.4.2 Pruebas de crecimiento.....	44
3.4.3 Consideraciones importantes de las pruebas estadísticas.....	44
CAPÍTULO 4 – EFECTOS DE ESTIMULACIÓN EN SEMILLAS DE TRIGO.....	45
4.1 Efectos de la radiación láser sobre el crecimiento del coleoptilo.....	46
4.1.1 Efectos provocados por la radiación láser roja con longitud de onda $\lambda=660\text{nm}$	46
4.1.2 Efectos provocados por la radiación láser roja en el espectro lejano con longitud de onda $\lambda = 850\text{nm}$	47
4.1.3 Efectos provocados por la radiación láser infrarroja con longitud de onda $\lambda = 980\text{nm}$	49
4.1.4 Efectos provocados por la radiación láser infrarroja pulsada con longitud de onda $\lambda = 904\text{nm}$	50
4.2 Efectos de la radiación láser sobre el crecimiento del sistema radicular.....	51
4.2.1 Efectos provocados por la radiación láser roja con longitud de onda $\lambda=660\text{nm}$	51

4.2.2 Efectos provocados por la radiación láser roja en el espectro lejano con longitud de onda $\lambda = 850\text{nm}$	52
4.2.3 Efectos provocados por la radiación láser infrarroja con longitud de onda $\lambda = 980\text{nm}$	53
4.2.4 Efectos provocados por la radiación láser infrarroja pulsada con longitud de onda $\lambda = 904\text{nm}$	55
4.3 Efectos de la radiación láser sobre la germinación en semillas de trigo.....	57
4.3.1 Efectos provocados por la radiación láser roja con longitud de onda $\lambda=660\text{nm}$	57
4.3.2 Efectos provocados por la radiación láser roja en el espectro lejano con longitud de onda $\lambda = 850\text{nm}$	59
4.3.3 Efectos provocados por la radiación láser infrarroja con longitud de onda $\lambda = 980\text{nm}$	61
4.3.4 Efectos provocados por la radiación láser infrarroja pulsada con longitud de onda $\lambda = 904\text{nm}$	63
CAPÍTULO 5 – DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS Y CONCLUSIONES.....	65
5.1 Discusión de los resultados.....	66
5.2 Conclusiones.....	68
APÉNDICE DE ESTADÍSTICA.....	70
A.1 Conceptos básicos.....	71
A.2 Arreglo ordenado.....	74
A.3 Datos agrupados y distribución de frecuencias.....	75
A.4 Estadística descriptiva: medidas de tendencia central.....	77
A.4.1 La media aritmética.....	78
A.4.2 La mediana.....	79
A.4.3 La moda.....	79
A.5 Estadística descriptiva: medidas de dispersión.....	79

A.5.1 El rango o intervalo de variación.....	80
A.5.2 La variancia.....	80
A.5.3 La desviación estándar.....	81
A.6 La distribución normal.....	81
A.7 Procesamiento de los datos obtenidos.....	83
PUBLICACIONES	87
REFERENCIAS	89
ANEXO	93

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 – ANTECEDENTES Y ESTADO DEL ARTE

Figura 1.1 Unión metal-semiconductor.....	13
Figura 1.2 Unión p-n.....	14
Figura 1.3 Hetero unión.....	14
Figura 1.4 Unión metal-óxido-semiconductor.....	14
Figura 1.5 Diodo láser homo estructura.....	19
Figura 1.6 Diodo láser hetero estructura.....	19
Figura 1.7 Construcción de un diodo láser hetero estructura.....	20
Figura 1.8 Regiones de operación del fotodiodo.....	21

CAPÍTULO 2 – DISEÑO DE LOS SISTEMAS LÁSER

Figura 2.1 Curva de potencia óptica de salida vs corriente de polarización directa para diferentes temperaturas.....	30
Figura 2.2. Graficas experimentales de la potencia óptica de salida contra la temperatura para los diodos láser con longitudes de onda a) 660 nm, b) 850 nm, c) 904 nm y d) 980 nm.....	32
Figura 2.3. Circuito de alimentación de los diodos láser que incorpora un termistor como dispositivo de control.....	33
Figura 2.4. Circuito de alimentación de los diodos láser que incorpora un arreglo de diodos serie en la base de un transistor.....	34
Figura 2.5. Circuito de alimentación de los diodos láser que utiliza el coeficiente de temperatura negativo de las uniones base-emisor de los transistores para controlar la potencia óptica de salida.....	35
Figura 2.6. Graficas experimentales compensadas de la potencia óptica de salida contra la temperatura para los diodos láser con longitudes de onda a) 660 nm, b) 850 nm, c) 904 nm y d) 980 nm.....	37

CAPÍTULO 4 – EFECTOS DE ESTIMULACIÓN EN SEMILLAS DE TRIGO

Figura 4.1. Crecimiento del coleoptilo para el láser de diodo con longitud de onda $\lambda=660\text{nm}$ e intensidades de la radiación de a) $I=3.75\text{mW/cm}^2$ y b) $I=15\text{mW/cm}^2$	46
Figura 4.2. Crecimiento del coleoptilo para el láser de diodo con longitud de onda $\lambda=850\text{nm}$ e intensidades de la radiación de a) $I=12.5\text{mW/cm}^2$ y b) $I=50\text{mW/cm}^2$	48
Figura 4.3. Crecimiento del coleoptilo para el láser de diodo con longitud de onda $\lambda=980\text{nm}$ e intensidades de la radiación de a) $I=15\text{mW/cm}^2$ y b) $I=60\text{mW/cm}^2$	49
Figura 4.4. Crecimiento del sistema radicular para el láser de diodo con longitud de onda $\lambda = 660\text{nm}$ e intensidad de la radiación de $I=15\text{mW/cm}^2$	51
Figura 4.5. Crecimiento del sistema radicular para el láser de diodo con longitud de onda $\lambda = 850\text{nm}$ e intensidades de la radiación de a) $I=12.5\text{mW/cm}^2$ y b) $I=50\text{mW/cm}^2$	52
Figura 4.6. Crecimiento del sistema radicular para el láser de diodo con longitud de onda $\lambda = 980\text{nm}$ e intensidades de la radiación de a) $I=15\text{mW/cm}^2$ y b) $I=60\text{mW/cm}^2$	54
Figura 4.7. Crecimiento del sistema radicular para el láser de diodo pulsado con longitud de onda $\lambda = 904\text{nm}$ e intensidades de la radiación de a) $I=0.9\text{mW/cm}^2$, b) $I=1.8\text{mW/cm}^2$ y c) $I=3.6\text{mW/cm}^2$	56

APÉNDICE DE ESTADÍSTICA

Figura A.1 Histograma obtenido para un grupo del crecimiento del coleoptilo.....	77
Figura A.2. Gráfica de la distribución normal.....	82
Figura A.3. Histogramas obtenidos para el crecimiento del coleoptilo en tres grupos de 25 semillas cada uno.....	84

ÍNDICE DE TABLAS

CAPÍTULO 1 – ANTECEDENTES Y ESTADO DEL ARTE

Tabla 1.1 Materiales semiconductores utilizados para la construcción de dispositivos.....	15
--	-----------

Tabla 1.2 Materiales semiconductores.....	17
--	-----------

CAPÍTULO 4 – EFECTOS DE ESTIMULACIÓN EN SEMILLAS DE TRIGO

Tabla 4.1. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=3.75\text{mW/cm}^2$	58
---	-----------

Tabla 4.2. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=7.5\text{mW/cm}^2$	58
--	-----------

Tabla 4.3. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=15\text{mW/cm}^2$	58
---	-----------

Tabla 4.4. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=30\text{mW/cm}^2$	58
---	-----------

Tabla 4.5. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=6.25\text{mW/cm}^2$	59
---	-----------

Tabla 4.6. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=12.5\text{mW/cm}^2$	60
---	-----------

Tabla 4.7. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=25\text{mW/cm}^2$	60
---	-----------

Tabla 4.8. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=50\text{mW/cm}^2$	61
---	-----------

Tabla 4.9. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=100\text{mW/cm}^2$	61
--	-----------

Tabla 4.10. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=15\text{mW/cm}^2$	62
--	-----------

Tabla 4.11. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=30\text{mW/cm}^2$	62
--	-----------

Tabla 4.12. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=60\text{mW/cm}^2$	62
Tabla 4.13. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=0.9\text{mW/cm}^2$	63
Tabla 4.14. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=1.8\text{mW/cm}^2$	63
Tabla 4.15. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=3.6\text{mW/cm}^2$	63

APÉNDICE DE ESTADÍSTICA

Tabla A.1 Datos crudos y arreglo ordenado para uno de los grupos de crecimiento del coleoptilo.....	74
--	-----------

RESUMEN

En el presente trabajo se investigaron los efectos de la radiación láser sobre el crecimiento del coleoptilo y del sistema radicular así como en la germinación de las semillas de trigo de la variedad Náhuatl (*Triticum aestivum L.*). Las longitudes de onda de los láseres de diodos utilizados fueron de 660nm, 850nm, 980nm y 904nm. Para el tratamiento de las semillas de trigo se definieron setenta y cinco tratamientos láser con diferentes intensidades y tiempos de exposición. Cada tratamiento láser se aplicó una vez antes de la siembra. Los experimentos fueron elaborados bajo condiciones de laboratorio. El análisis estadístico mostró activaciones y desactivaciones importantes en el crecimiento del coleoptilo, del sistema radicular y en la germinación. Basados en los resultados obtenidos se concluye que las respuestas de activación y desactivación de las variables antes mencionadas fueron mayores al utilizar los láseres de diodos en los espectros infrarrojos. Cuando se observaron respuestas de activación y desactivación en el crecimiento de las semillas de trigo, los parámetros de la radiación láser responsables de estos cambios fueron, la longitud de onda, la intensidad y el tiempo de exposición de la radiación láser.

ABSTRACT

In this study the effects of laser radiation on the growth of coleoptile and root system as well as in the germination of wheat seeds of the variety Nahuatl (*Triticum aestivum L*) were investigated. The wavelengths of laser diodes used were 660nm, 850nm, 980nm and 904nm. For the treatment of wheat seeds seventy five laser treatments were defined with different intensities and exposure times. Each laser treatment was applied once before planting. The experiments were developed under laboratory conditions. The statistical analysis showed significant activations and deactivations for the growth of the coleoptile, the root system and the germination. Based on the results it is concluded that the responses of activation and deactivation of the aforementioned variables were greater when using laser diodes in the infrared spectra. When activation and deactivation responses were observed on the growth of wheat seeds, the parameters of laser radiation that were responsible for these changes were the wavelength, the intensity and the exposure time of laser radiation.

OBJETIVOS

Investigar los efectos que produce la radiación láser roja (con longitud de onda $\lambda=660\text{nm}$) e infrarroja (con longitudes de onda $\lambda=850\text{nm}$, 980nm y 904nm) de onda continua y pulsada, producida por los láseres de diodos, sobre la germinación y el crecimiento del coleoptilo y del sistema radicular en semillas de trigo de la variedad Náhuatl (*Triticum aestivum L.*).

Implementar técnicas estadísticas que permitan detectar los cambios en la germinación y en el crecimiento del coleoptilo y del sistema radicular en las semillas de trigo.

Determinar la magnitud de los efectos provocados por la radiación láser roja e infrarroja sobre la germinación y el crecimiento del coleoptilo y del sistema radicular en las semillas de trigo variedad Náhuatl.

Determinar los parámetros de la radiación láser (longitud de onda, intensidad y tiempo de exposición) que producen cambios en la germinación y en el crecimiento del coleoptilo y del sistema radicular en las semillas de trigo.

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son los efectos que produce la radiación láser roja ($\lambda=660\text{nm}$) e infrarroja ($\lambda=850\text{nm}$, $\lambda=980\text{nm}$ y $\lambda=904\text{nm}$) de onda continua y pulsada, producida por láseres de diodos, sobre la germinación y el crecimiento del coleoptilo y del sistema radicular en semillas de trigo de la variedad Náhuatl (*Triticum aestivum L*)?

¿A través de qué técnicas estadísticas es posible detectar los cambios en la germinación y en el crecimiento del coleoptilo y del sistema radicular en las semillas de trigo?

¿Cuáles son las magnitudes de los efectos producidos por la radiación láser sobre la germinación y el crecimiento del coleoptilo y del sistema radicular en las semillas de trigo?

¿Cuáles son los parámetros de la radiación láser responsables de modificar la germinación y el crecimiento del coleoptilo y del sistema radicular en las semillas de trigo de la variedad Náhuatl?

JUSTIFICACIÓN

Existen diversos métodos para estimular el crecimiento de las plantas. Su objetivo principal es el de incrementar la producción agrícola. Dentro de estos métodos podemos encontrar los métodos químicos y los métodos físicos.

Los métodos químicos, desde su descubrimiento, provocaron una revolución científica y productiva. En los últimos 50 años estos han sido ampliamente utilizados para fertilizar los cultivos, controlar las plagas e incrementar la producción alimentaria. Su uso prolongado en la producción de los alimentos ha llevado a la contaminación del suelo, del agua, de la atmósfera y de los materiales crudos con toxinas peligrosas para la salud de los consumidores. También han causado decrementos en la resistencia de las plantas, el rendimiento de los alimentos y en la capacidad del suelo para proporcionar nutrientes a las plantas.

Lo anterior ha generado la necesidad de desarrollar e implementar nuevos métodos para mejorar la calidad de los alimentos. Dentro de estos métodos podemos encontrar el uso racionalizado de los químicos así como la sustitución de algunos de ellos por métodos físicos.

Los métodos físicos representan actualmente una alternativa viable a los métodos químicos. Los métodos físicos se basan en el uso de factores físicos (radiación láser, ultrasonido, campos eléctricos y campos magnéticos entre otros) para el tratamiento de las semillas crudas con el objetivo principal de incrementar el rendimiento y acelerar el crecimiento y desarrollo.

Los métodos físicos se utilizan de forma tal que influyen de manera controlada sobre el comportamiento de los sistemas biológicos durante su desarrollo. Este desarrollo está fuertemente determinado por el impacto de los diversos factores físicos, los cuales, en condiciones naturales definen el ambiente de desarrollo y crecimiento de las plantas.

El uso de estos métodos físicos permite reducir las toxinas en los materiales crudos incrementando de esta forma la seguridad de los alimentos. Aunque los mecanismos de acción son aún desconocidos, la evidencia experimental muestra que los métodos físicos permiten que las plantas vegeten con un nivel de energía mayor.

El presente trabajo investiga los efectos de un método físico, la radiación láser, sobre las semillas de trigo con el fin de incrementar la evidencia experimental en favor del uso de estos métodos.

DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El trigo es el segundo grano más producido a nivel mundial con una producción, reportada por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), de 682 millones de toneladas métricas (Mt). En México desde el año de 1985 se ha observado una disminución paulatina en la producción de este grano (Villaseñor et al., 2007). Entre el año de 1996 y el año 2004 la importación de trigo pasó de 750 mil Mt a 3 millones de Mt de las 6 millones de Mt necesarias para satisfacer el consumo interno. En la actualidad la importación de trigo representa el 74.3% del total necesario para satisfacer la demanda interna. Debido a este decremento registrado en la producción de México, el presente trabajo investiga los efectos de estimulación de un método físico, radiación láser, en un trigo mexicano con el fin de proponer métodos alternativos que permitan contribuir con la solución de este problema.

El trigo seleccionado (*Triticum aestivum L*) corresponde a la variedad Náhuatl. La selección de este grano se debe a su importancia en la producción alimentaria. De igual forma las características ambientales encontradas en el Distrito Federal, lugar donde se elaboraron los experimentos, permiten su desarrollo óptimo.

Para evaluar los efectos de la radiación láser sobre las semillas de trigo se consideraron las siguientes variables: el porcentaje de germinación, el crecimiento del coleoptilo y del sistema radicular, todas ellas en las etapas iniciales de desarrollo del trigo. Estas variables físicas son representativas en el desarrollo de las semillas ya que permiten estimar el rendimiento futuro de la cosecha. La presente investigación no evalúa este último.

En la actualidad los diodos láser son dispositivos que han encontrado una gran cantidad de aplicaciones. Estas aplicaciones han permeado las áreas de la biología y la agricultura. El desarrollo de estas aplicaciones se ha visto beneficiado por los bajos costos en los procesos de manufactura de los diodos láser.

Con respecto a las longitudes de onda seleccionadas, en diversas investigaciones se ha observado que las plántulas responden óptimamente en los espectros rojos e infrarrojos,

lo que hace importantes a estas regiones para su investigación en la producción de efectos de estimulación.

GLOSARIO

nm	nanómetros.
λ	Longitud de onda de la luz. Sus unidades son los nanómetros (nm).
He-Ne	Láser de Helio-Neón.
I	Intensidad de radiación. Sus unidades se expresan en [W/cm ²].
T	Tiempo de aplicación de la radiación láser. Sus unidades son los segundos [s].
Fitocromo	Proteína fitocrómica foto-receptora cuyos orígenes han sido trazados a partir de los procariontes fotosintéticos.
Material P	Material semiconductor en el cual hay un mayor número de huecos.
Material N	Material semiconductor en el cual hay un mayor número de electrones.
Región PN	Es el punto de unión en donde se une el material P y el material N.
Láser	Acrónimo de la palabra Amplificación de luz por emisión estimulada de radiación (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation).
IR	Radiación infrarroja.
CW	Onda continua.
CA	Corriente alterna.
CD	Corriente directa.
RF	Ondas de Radio Frecuencia.
GaAs	Material semiconductor de Arseniuro de Galio.
AlGaAs	Material semiconductor de Arseniuro de Galio Aluminio.
Plúmula	Pequeño brote de planta, que durante la germinación proporcionará el tallo y las hojas.
Radícula	Parte del embrión de las plantas que da lugar a la raíz.

CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES Y ESTADO DEL

ARTE

1.1 LÁSERES

Desde la invención del láser en 1960 (Aladjadjiyam, 2007), la luz láser ha tocado todos los aspectos de nuestras vidas, desde el entretenimiento en casa, el almacenamiento de grandes cantidades de información, las telecomunicaciones con fibras ópticas y hasta el desarrollo de aplicaciones en la biología, medicina y agricultura.

La palabra láser es un acrónimo del inglés “light amplification by stimulated emission of radiation” (amplificación de luz por emisión estimulada de radiación) (Kasap, 2001; Sze, 2001). La emisión estimulada ocurre cuando un fotón hace que una molécula en su estado excitado emita un segundo fotón. La emisión estimulada no requiere de un equipo especial, esta ocurre regularmente cuando los fotones de una determinada energía encuentran moléculas en su estado excitado. Sin embargo, las moléculas en su estado excitado son raras de encontrar en comparación con las moléculas en su estado basal. Para obtener una amplificación de luz por emisión estimulada es necesario tener una mayor cantidad de emisión estimulada que absorción de luz, lo que significa tener un mayor número de moléculas en su respectivo nivel excitado que moléculas en su estado basal. Esto se puede conseguir de diferentes maneras, pero nunca por la absorción directa de luz. Para conseguir estas moléculas excitadas los láseres utilizan un bombeo óptico indirecto, el cual puede ser a través de energía eléctrica o reacciones químicas. Para que un láser trabaje, las pérdidas de fotones deben de ser minimizadas por alguna configuración óptica adecuada, principalmente con el uso de espejos.

La luz láser presenta características muy específicas que la diferencian de otro tipo de luz.

- La luz láser es coherente y se constituye con trenes de ondas largos.
- Dependiendo del tipo de láser, la luz láser puede ser muy colimada (todos los rayos son muy paralelos).

- La luz láser es muy monocromática (ancho de banda espectral muy estrecho) o puede estar constituida por un número muy pequeño de anchos de banda muy estrechos.
- La luz láser puede estar, aunque no necesariamente, polarizada de forma plana.
- La luz de algunos tipos de láseres puede ser emitida con pulsos extremadamente cortos y con potencias de salida muy altas, sin embargo esto no aplica para todos los láseres. Algunos láseres emiten luz de onda continua con potencias de salida muy bajas.

Un láser que todavía es muy utilizado hoy en día en el área de la fotoquímica y la fotobiología (Plummer et al., 1997; Shimizu-Sato et al., 2002; Smith, 2000) es el láser de helio-neón (He-Ne). Este láser emite luz con una longitud de onda de 632.8nm, aunque es posible encontrarlo con longitudes de onda en el espectro infrarrojo (IR). Otros láseres que ha encontrado su lugar en estas mismas áreas de la ciencia son los láseres de diodos. Estos dispositivos presentan longitudes de onda que van desde los 370nm hasta el IR cercano. Actualmente estos dispositivos presentan bajos costos de manufactura lo que los hace una opción viable para su implementación.

1.2 DIODO LÁSER

Como ya se mencionó en la sección anterior los láseres de diodos son dispositivos que han encontrado un lugar muy importante en el área de la fotoquímica y la fotobiología. A continuación se explicaran algunas de las características de estos dispositivos.

1.2.1 Dispositivos Semiconductores

Los dispositivos semiconductores son el fundamento de la industria electrónica (Sze, 2001). Desde el desarrollo del transistor, en 1947 por Bardeen y Brattain seguido por Shockley en 1949, ésta industria se ha transformado dando pie a lo que conocemos como la era electrónica moderna.

Dentro de los dispositivos semiconductores existen los producidos a partir de materiales de un sólo elemento como el silicio (Si) y el germanio (Ge). Estos materiales han sido de los más estudiados para la fabricación de dispositivos semiconductores. Particularmente las propiedades del silicio fueron muy estudiadas desde inicios del año 1940. Por mucho tiempo los semiconductores compuestos permanecieron ignorados. Fue hasta 1952 que Welker observó que el arsenurio de galio (GaAs) y los materiales compuestos III-V eran semiconductores. En los últimos 50 años el estudio profundo de los semiconductores compuestos y de sus técnicas de fabricación ha dado pie a los láseres semiconductores, los cuales se ubican entre los dispositivos semiconductores más importantes. La implementación y el desarrollo de aplicaciones utilizando estos dispositivos requieren un conocimiento profundo de sus propiedades internas y sus características, ya que esto determina el control correcto del dispositivo.

1.2.2 Bloques básicos de construcción de los Dispositivos Semiconductores

Los dispositivos semiconductores han sido estudiados por más de 125 años. A la fecha existen aproximadamente 60 dispositivos básicos, de los cuales se han realizado más de 100 variaciones. Sin embargo todos estos dispositivos pueden construirse a partir de un pequeño número de bloques básicos (Kasap, 2001; Sze, 2001).

- *Unión metal-semiconductor:* Esta unión se forma a partir del contacto de un metal y un semiconductor. Este es el primer dispositivo semiconductor estudiado (1874). Ésta unión puede utilizarse como un contacto rectificador, esto es, el dispositivo permite el flujo de corriente fácilmente en una sola dirección. Otro uso es como contacto óhmico, el cual permite el paso de la corriente en una u otra dirección con una caída de voltaje despreciable. Por ejemplo, utilizando un contacto rectificador como compuerta, y dos contactos óhmicos como drenaje y fuente se puede construir un MESFET (metal-semiconductor field effect transistor).

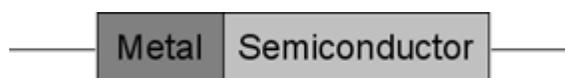


Figura 1.1. Unión metal-semiconductor.

- *Unión p-n*: Esta unión se forma a partir del contacto de un material semiconductor tipo p (con portadores positivos) y un material semiconductor tipo n (con portadores negativos). La unión $p-n$ es el fundamento de la mayor parte de los dispositivos semiconductores. La teoría de esta unión sirve como fundamento de la física de los dispositivos semiconductores.



Figura 1.2. Unión p-n.

- *Hetero unión*: Esta unión se forma a partir del contacto de dos materiales semiconductores diferentes, por ejemplo, arsenuro de galio (GaAs), arsenuro de aluminio (AlAs). Las hetero uniones son el fundamento de los dispositivos de alta velocidad y de los dispositivos fotónicos.

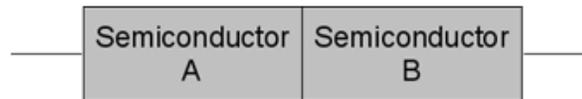


Figura 1.3. Hetero unión.

- *Estructura metal-óxido-semiconductor (MOS)*: Esta estructura se puede considerar como la combinación de dos uniones; una unión metal-óxido y una unión óxido-semiconductor. El uso de una estructura MOS como compuerta y dos uniones $p-n$ como drenaje y fuente forma el dispositivo MOSFET (MOS field effect transistor). El MOSFET es el dispositivo más importante para la fabricación de circuitos integrados avanzados, los cuales llegan a contener miles de dispositivos por circuito integrado.

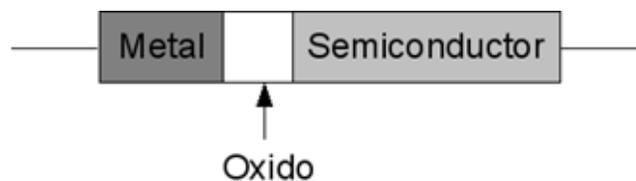


Figura 1.4. Unión metal-óxido-semiconductor.

1.2.3 Materiales semiconductores

Los materiales de estado sólido pueden agruparse en tres clases (Sze, 2001): aislantes, semiconductores, y conductores. Estos materiales se diferencian por la conductividad σ asociada a ellos. Entre los materiales aislantes y los conductores tenemos a los semiconductores. La conductividad de los materiales semiconductores es sensible a la temperatura, iluminación, campo magnético y a las impurezas de átomos en el material. Esta sensibilidad en la conductividad hace a los materiales semiconductores importantes para las aplicaciones electrónicas.

1.2.4 Semiconductores de un sólo elemento

Los materiales semiconductores se comenzaron a estudiar desde los comienzos del siglo XIX. Con el paso de los años se han encontrado diversos materiales semiconductores que se han implementado para la fabricación de dispositivos semiconductores (Stockton, 1982; Kasap, 2001). La tabla 1.1 muestra los materiales semiconductores utilizados para la construcción éstos dispositivos.

Tabla 1.1. Materiales semiconductores utilizados para la construcción de dispositivos.

Periodo	Columna II	III	IV	V	VI
2		B Boro	C Carbono	N Nitrógeno	O Oxígeno
3	Mg Magnésio	Al Aluminio	Si Silicio	P Fósforo	S Azufre
4	Zn Zinc	Ga Galio	Ge Germanio	As Arsénico	Se Selenio
5	Cd Cadmio	In Indio	Sn Estaño	Sb Antimonio	Te Telurio
6	Hg Mercurio		Pb Plómo		

Los semiconductores de un sólo elemento son aquellos que están compuestos por un sólo tipo de átomos, como el silicio (Si) y el germanio (Ge), los cuales se pueden encontrar en la columna IV de la tabla periódica. El germanio fue muy utilizado durante los años 50's. Desde principios de 1960 hasta nuestros días, el silicio ha venido sustituyendo al germanio,

siendo actualmente el material semiconductor utilizado para la fabricación de dispositivos. Las principales razones por las que el silicio ha sustituido al germanio son: que el primero presenta mejores propiedades a temperatura ambiente y que es posible crecer térmicamente dióxido de silicio de alta calidad. Otra razón, de naturaleza económica, es que los dispositivos semiconductores de silicio cuestan muy poco en comparación con otros materiales semiconductores. El silicio en forma de silicatos y sílice compone el 25% de la corteza terrestre, siendo el segundo elemento en abundancia después del oxígeno. Actualmente el Silicio es uno de los elementos más estudiados de la tabla periódica, y la tecnología del silicio es por mucho de las más avanzadas entre las tecnologías de los materiales semiconductores.

1.2.5 Semiconductores compuestos

En los últimos años los semiconductores compuestos han encontrado aplicaciones en diversos dispositivos semiconductores. La tabla 1.2 muestra una lista de los semiconductores compuestos. Un semiconductor compuesto binario es aquel que se forma a partir de la combinación de dos elementos de la tabla periódica. Por ejemplo, el arsenuro de Galio (GaAs), el cual es un semiconductor compuesto por Galio (elemento de la columna III) y Arsénico (elemento de la columna V). A los semiconductores compuestos binarios se le suman los semiconductores compuestos ternarios y cuaternarios, los cuales se utilizan para aplicaciones especiales (Stockton, 1982; Svacek, 1980; Sze, 2001).

Al comparar los procesos de preparación de los semiconductores compuestos con los procesos de los semiconductores de un elemento, la preparación de los cristales de los primeros involucra procesos mucho más complejos.

Muchos de los semiconductores compuestos presentan características eléctricas y propiedades ópticas diferentes a las del silicio. Éstos semiconductores, especialmente el GaAs, son utilizados principalmente para la fabricación de dispositivos de alta velocidad y dispositivos para aplicaciones fotónicas.

Tabla 1.2. Materiales semiconductores

Clasificación General de los semiconductores	Semiconductor	
	Símbolo	Nombre
De un elemento	Si	Silicio
	Ge	Germanio
Compuestos binarios		
IV - IV	SiC	Caronduro
III - V	AlP	Fosfuro de aluminio
	AlAs	Arsenuro de Aluminio
	AlSb	Antimonio de Aluminio
	GaN	Nitrito de Galio
	GaP	Fosfuro de Galio
	GaAs	Arsenuro de Galio
	GaSb	Antimonio de Ga
	InP	Fosfuro de Indio
	InAs	Arsenuro de Indio
II - VI	ZnO	Óxido de Zinc
	ZnS	Sulfuro de Zinc
	ZnSe	Selenurio de Zinc
	ZnTe	Telurio de Zinc
	CdS	Sulfuro de Cadmio
	CdSe	Selenurio de Cadmio
	CdTe	Telurio de Cadmio
	HgS	Sulfuro de Mercurio
IV - VI	PbS	Sulfuro de Plomo
	PbSe	Selenurio de Plomo
	PbTe	Telurio de Plomo
Compuestos ternarios		
	$Al_xGa_{1-x}As$	Arsenuro de Galio Aluminio
	$Al_xIn_{1-x}As$	Arsenuro de Indio Aluminio
	$GaAs_{1-x}P_x$	Fosfuro de Arsénico Galio
	$Ga_xIn_{1-x}As$	Arsenuro de Indio Galio
	$Ga_xIn_{1-x}P$	Arsenuro de Indio Fósforo
Compuestos cuaternarios		
	$Al_xGa_{1-x}As_ySb_{1-y}$	Antimonio Arsénico Galio Aluminio
	$Ga_xIn_{1-x}As_{1-y}P_y$	Fosfuro de Arsénico Indio Galio

1.2.6 Diodos láser

Como ya se mencionó anteriormente para la producción de luz láser se utilizan semiconductores compuestos los cuales presentan bandas prohibidas directas. Estas bandas prohibidas directas son consecuencia de que los materiales semiconductores compuestos conserven sus momentos (Svacek, 1980). Actualmente, las longitudes de onda de la emisión láser producidas por estos dispositivos se ubican en un intervalo de 0.3 a 30 μm . El arsenuro de galio fue el primer material semiconductor que emitió radiación láser de ahí que la información disponible para este material sea mayor que para la de cualquier otra unión.

En un diodo láser para conseguir la población de inversión que produzca la emisión estimulada se requiere de un punto de operación resultado de una alimentación eléctrica (Kasap, 2001; Sze, 2001). Esta alimentación eléctrica producirá un número importante de huecos y electrones que posteriormente serán inyectados a través de la región de agotamiento. Cuando existe una gran cantidad de electrones en la banda de conducción y una gran cantidad de huecos en la banda de valencia se tienen las condiciones para la producción de la población de inversión. Esta población de inversión será la responsable de la producción de la radiación láser.

Los diodos láser presentan dos estructuras básicas. La primera es una unión básica p - n la cual es llamada homo estructura (Figura 1.5.). Su nombre se debe a que es el mismo material semiconductor en ambos lados de la unión, por ejemplo GaAs. La segunda estructura es conocida como hetero estructura (Figura 1.6). En esta encontramos dos materiales semiconductores diferentes, por ejemplo GaAs como material n y GaAlAs como material p . Lo anterior trae como consecuencia que los diodos láser hetero estructura requieran de una menor alimentación eléctrica para poder funcionar.

Tanto los diodos láser homo estructura como los hetero estructura tiene una cavidad de resonancia del tipo Fabry-Perot. La longitud típica de esta cavidad es de 300 μm para los semiconductores modernos.

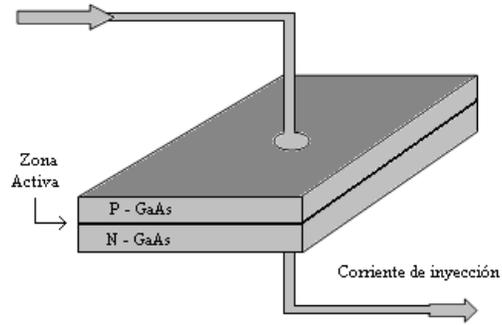


Figura 1.5. Diodo láser homo estructura.

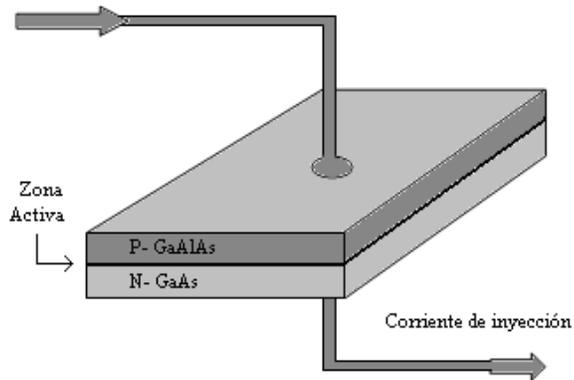


Figura 1.6. Diodo láser hetero estructura.

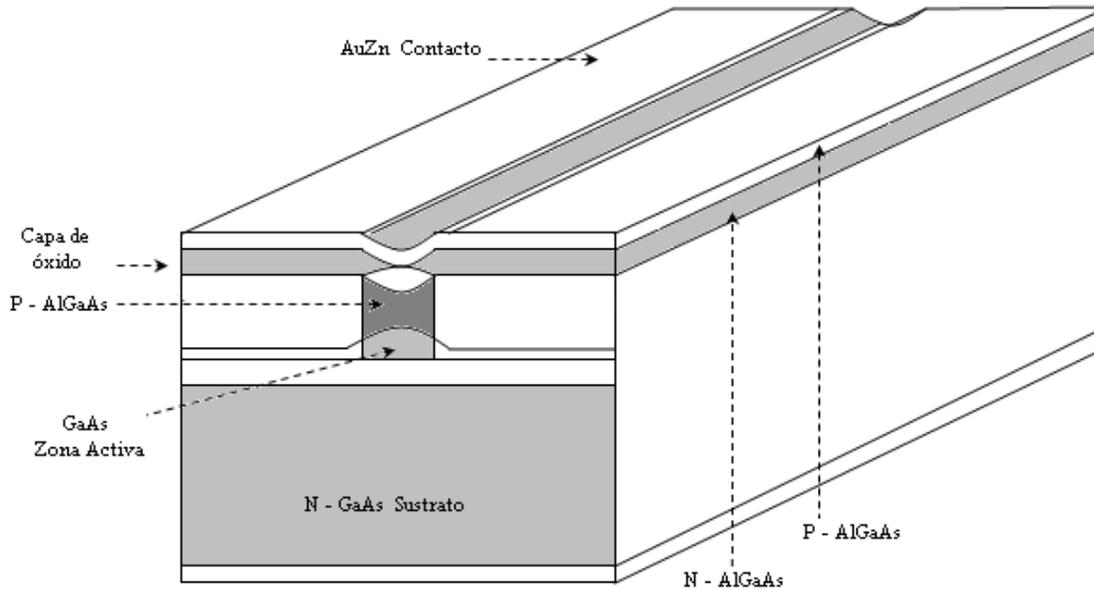


Figura 1.7. Construcción de un diodo láser hetero estructura.

1.3 FOTODIODO

Otro dispositivo de igual importancia que el diodo láser es el fotodiodo. Los fotodiodos son pequeños, económicos, de uso rudo y no requieren de altos voltajes para su operación. A través de estos dispositivos es posible conocer algunas de las características de la radiación láser. Este será el principal uso del dispositivo en el presente trabajo.

El fotodiodo es un sensor óptico construido a partir de materiales semiconductores (Freyden, 2003). Este dispositivo se puede construir a partir de la unión de materiales metal semiconductor, semiconductores homo unión o hetero unión.

Cuando el dispositivo se encuentra en condiciones de total oscuridad es posible observar una corriente llamada corriente de oscuridad. Esta corriente es el equivalente a la corriente de saturación inversa que presentan los diodos de silicio. La temperatura es la principal responsable de la aparición de esta corriente.

El fotodiodo tiene tres regiones de operación (Freyden, 2003; Sze, 2001): la región de polarización directa, la región foto voltaica y la región foto conductiva. La región de polarización directa se obtiene cuando el dispositivo se polariza de forma directa y se

expone a un haz luminoso con la frecuencia propia del dispositivo. En esta región de polarización el flujo de corriente es muy similar al de un diodo de silicio polarizado directamente, por lo que la incidencia de fotones en el dispositivo no incrementará de forma significativa su flujo de corriente. La corriente queda determinada principalmente por la polarización directa más que por la incidencia de los fotones. La región foto voltaica se obtiene cuando el dispositivo se comporta como una fuente de alimentación; el dispositivo no es conectado a alguna fuente de alimentación para su operación. En esta configuración el fotodiodo convierte la energía luminosa en energía eléctrica siendo esta la principal configuración de las celdas solares. Los fotones que golpean los materiales semiconductores producen electrones en la banda de conducción así como una diferencia de potencial entre sus terminales que será entregada a los elementos del circuito en el cual esté conectado el fotodiodo. La tercera y última región de operación es la región foto conductiva. Para que el dispositivo opere en esta región es necesario que se le polarice inversamente. En esta polarización el flujo de corriente a través del dispositivo está determinado por los portadores minoritarios en la unión. La incidencia de luz en el dispositivo generará portadores minoritarios que incrementarán el flujo de corriente a través del dispositivo. A mayor incidencia de luz, mayor corriente a través del dispositivo. En esta región es en la que principalmente se trabajan los fotodiodos como sensores de luz.

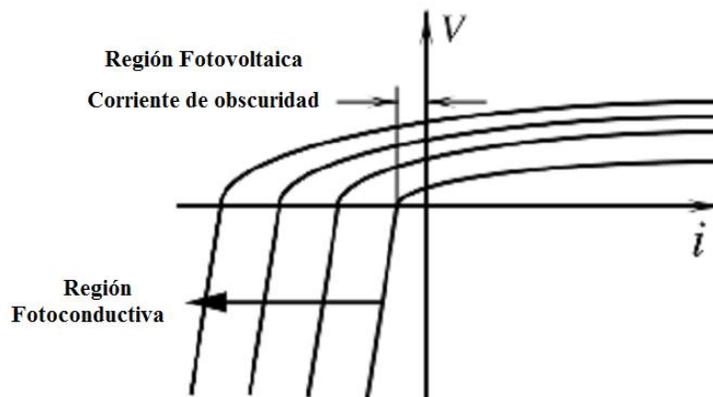


Figura 1.8. Regiones de operación del fotodiodo.

1.4 EFECTOS DE ESTIMULACIÓN EN LAS PLANTAS

Los efectos de estimulación en las semillas de plantas se dan por dos posibles mecanismos acción: el primero corresponde a la absorción y transformación de la energía fotónica en energía química por moléculas especializadas (Levskaya et al., 2009; Mendelsohn, 2002; Shimizu-Sato, 2002; Smith, 2000), y el segundo corresponde a la absorción y transformación de la energía fotónica en energía química por moléculas no especializadas (Aladjadjiyan, 2007; Karu, 1987, 1998; Salyaev et al., 2007, 2003, 2001). Dentro de las moléculas foto receptoras especializadas tenemos a los fitocromos.

1.4.1 Moléculas especializadas: los fitocromos

Uno de los grandes logros en la biología fue el descubrimiento de los pigmentos de la visión en las plantas (Smith, 2000). Antes del descubrimiento de los fitocromos se conocía que algunos efectos de la luz roja sobre las plantas se podían cancelar exponiendo éstas mismas a la luz roja en el espectro lejano después de haberlas tratado previamente con la luz roja (Mendelsohn, 2002). En semillas de lechuga se demostró que su germinación podía ser inhibida exponiendo las semillas a luz roja en el espectro lejano (720-740 nm) después de haberlas tratado con luz roja. Este mismo antagonismo se mostró en semillas de frijol. En 1957 Withrow, Klein y Elstad estudiaron la influencia de la luz roja y de la luz roja en el espectro lejano sobre los ganchos de las semillas de frijol (Levskaya, 2009). Basados en sus estudios postularon la existencia de un regulador del crecimiento sensible a la luz llamado fitocromo. El fitocromo se forma en las semillas de las plantas en su forma inactiva (Plummer, 1997; Smith, 2000), llamada P_r , el cual puede ser llevado a su forma activa, P_{fr} , con luz roja. Los fitocromos son capaces de regular casi todas las fases de desarrollo de las plantas: germinación, establecimiento de plántulas, arquitectura de la madurez de las plantas y floración.

Debido a la importancia de la luz roja y de la luz roja en el espectro lejano es que el presente trabajo propone el uso de radiación láser con longitudes de onda de 660 y 850 nm para investigar sus efectos sobre la germinación y el crecimiento del coleoptilo y del sistema radicular en semillas de trigo.

1.4.2 Efectos de estimulación por moléculas no especializadas.

Como ya se mencionó con anterioridad en las plantas existen moléculas especializadas encargadas de absorber y transformar la energía fotónica en energía química. Esta energía química contribuye de forma posterior a modificar las condiciones de crecimiento de las plantas.

La absorción de energía fotónica no es un proceso único de las moléculas especializadas (Aladjadjiyan, 2007; Karu, 1998; Salyaev et al., 2007, 2003, 2001). En las plantas, la energía fotónica puede ser absorbida por moléculas foto receptoras no especializadas, esto es, existen moléculas que pueden absorber la luz en ciertas longitudes de onda y que no están incorporadas en órganos especializados para la recepción de la luz. De esta forma es posible activar algunos de los componentes nativos en las plantas permitiendo cambiar así los parámetros de crecimiento de las mismas. Se cree que los procesos de bioestimulación se ubican dentro del grupo de interacciones fotoquímicas.

En la interacción de la luz láser con los sistemas biológicos existen cuatro parámetros de la luz que son importantes para la producción de los efectos de estimulación (Aladjadjiyan, 2007; Salyaev, 2007, 2003, Vasilevski, 2003):

- *El tiempo de exposición:* determina el tipo de interacción con los sistemas biológicos.
- *La longitud de onda:* determina que tan profundo penetra la radiación láser en los tejidos, esto es, como es absorbida y dispersada la energía.
- *La densidad de energía:* es una condición necesaria para la aparición de los efectos y determina a su vez la magnitud de los mismos.
- *La intensidad:* se define como la razón de la densidad de energía y la duración del pulso

La habilidad de un medio para absorber la radiación láser depende de varios factores, los principales son: la constitución electrónica de los átomos y moléculas, la longitud de

onda de la radiación, el espesor de la capa absorbente y los parámetros internos como la temperatura y la concentración de los agentes absorbentes. Lo anterior puede ser descrito a través de la ley de *Lambert y Beer*:

$$I(z) = I_0 e^{(-\alpha z)} \quad (1)$$

$$I(z) = I_0 e^{(-k' cz)} \quad (2)$$

La Ley de *Lambert-Beer* puede ser reescrita como:

$$z = \frac{1}{\alpha} \ln \frac{I_0}{I(z)} \quad (3)$$

Donde z denota el eje óptico, $I(z)$ es la intensidad a una distancia z , I_0 corresponde a la intensidad incidente, α corresponde al coeficiente de absorción del medio, c corresponde a la concentración de agentes absorbentes y k' depende de los parámetros internos diferentes a la concentración.

En el caso de la radiación láser infrarroja (IR) pese a que los fotones tienen un menor nivel de energía estos pueden penetrar más en las estructuras de las plantas permitiendo así concentrar más energía dentro del sistema. Relacionado con la intensidad, los diodos láser pulsados pueden producir intensidades pico muy altas (en el orden de Vatios) que a su vez pueden producir en los sistemas biológicos efectos con magnitudes considerables.

Tomando en consideración los aspectos antes mencionados de la radiación láser IR es que el presente trabajo investiga los efectos de la radiación de dos láseres de diodos, uno de onda continua (con $\lambda=980$ nm) y otro de onda pulsada (con $\lambda=904$ nm), para saber si es posible obtener efectos de estimulación de mayor amplitud que para las longitudes de onda de la radiación láser roja ($\lambda=660$ nm) y roja en el espectro lejano ($\lambda=850$ nm).

1.5 EFECTOS DE ESTIMULACIÓN EN SEMILLAS DE DIFERENTES ESPECIES

Después del descubrimiento del láser en 1960 surgió el interés de diversos investigadores por utilizar este tipo de radiación en el pre-tratamiento de las semillas con el

fin de mejorar sus características y estimular su crecimiento (Aladjadjiyan, 2007; Vasilevski, 2003). Paleg et al. (1970) en la revista Nature Biotechnology reportaron el uso de un láser de He-Ne con longitud de onda $\lambda = 632.8\text{nm}$ para activar el crecimiento y desarrollo de diversas plantas a través de la activación de sus fitocromos. Esta activación llevó al aumento en el rendimiento de la cosecha en casi media milla. En el año 2002, en la misma revista, Mendelsohn (2002) reportó el desarrollo de un sistema que permite activar un gen a través de una proteína fotosensitiva fundando de esta manera la Ingeniería Biológica basada en la Luz. En el mismo número Shimizu-Sato et al. (2002) reportó el desarrollo de un sistema promotor de genes el cual puede ser activado y desactivado a través de pequeños pulsos de luz roja y luz roja en el espectro lejano respectivamente. Este sistema promotor de genes permite un control sencillo de las expresiones de los sistemas biológicos utilizados en la investigación biomédica y en la agricultura, ya que previene el uso de químicos exógenos que llevan a la intoxicación de los sistemas. Levskaya et al. en el año 2009 reportó el desarrollo de una proteína sensible a la luz para controlar de forma precisa el comportamiento celular. Esta proteína fotosensible permite activar y desactivar la actividad de las membranas en las células y se basa en un fitocromo de la *Arabidopsis thaliana*.

En todas estas publicaciones se indican las longitudes de onda que permiten modificar el comportamiento de los sistemas biológicos, pero la intensidad y el tiempo de exposición a la radiación no son mencionados.

Chen et al. (2005) investigaron los efectos de un láser de He-Ne con longitud de onda $\lambda=632.8\text{ nm}$, potencia de salida de 5.23 mW/mm^{-1} y tiempo de exposición de 5 min sobre el crecimiento de las plántulas, los parámetros termodinámicos y la actividad enzimática de las semillas de *Isatis indigotica*. De los resultados obtenidos en su estudio concluye que el láser de He-Ne tiene dos efectos: un efecto de corto plazo el cual incrementa la energía interna de las semillas y un efecto de largo plazo el cual contribuye a la aceleración en el crecimiento y desarrollo de las plántulas. Nuevamente los parámetros de la luz no son especificados.

Wilczek et al. (2005, 2004) reportaron los efectos de la radiación láser roja producida por un láser de He-Ne sobre la germinación de semillas de alfalfa y de trébol rojo. Sus

resultados mostraron que para una intensidad de 6 mW/cm^2 y tiempos de exposición de 0.3 y 0.5s la germinación normal se incrementó significativamente mientras que la germinación anormal disminuyó también de forma significativa. Un problema que se observa en estos trabajos es que los tiempos de radiación utilizados son muy pequeños y no se reporta el desarrollo de trabajos previos que optimicen este parámetro para obtener respuestas máximas.

La radiación de los láseres de He-Ne con longitud de onda $\lambda=632.8 \text{ nm}$ también permite modificar las reacciones bioquímicas, los procesos foto-morfo-genéticos y la composición química en las plantas de semillas hortícolas (Podlesny, 2004, 2002; Salyaev, 2007, 2003, 2001). Para los procesos foto-morfo-genéticos la radiación láser acelera el brote del coleoptilo y de las raíces en las etapas iniciales de desarrollo así como también incrementa el área de las hojas en etapas posteriores de su desarrollo. Además permite activar los procesos de reparación de daños en las plantas (Salyaev, 2007, 2003, 2001).

Es importante mencionar que no sólo se han desarrollado investigaciones con láseres de He-Ne sino que también se han desarrollado trabajos con otro tipo de láseres. Rani et al. (1985) utilizaron un láser pulsado de nitrógeno con longitud de onda $\lambda=337 \text{ nm}$ para estudiar su influencia en las características morfológicas y en los contenidos bioquímicos de semillas de *Vigna radiata*. Los resultados obtenidos muestran un incremento significativo en la longitud de las raíces y del tallo así como en el peso fresco y peso seco de las plántulas para un tiempo de exposición de 30 min. El máximo conteo de proteínas se obtuvo para un tiempo de exposición de 20 min. El contenido de clorofila no fue afectado por la radiación láser.

1.6 EFECTOS DE ESTIMULACIÓN EN SEMILLAS DE TRIGO

En el año 1994, Drozd (1994) reportó el uso de un láser de rubí para radiar cinco variedades diferentes de trigo primavera. Los resultados obtenidos mostraron un aumento significativo en el número de espigas por oreja de trigo para una de las variedades de trigo, Hera. Las demás variedades de trigo no mostraron cambios significativos. Posteriormente utilizó un láser de He-Ne con longitud de onda $\lambda=632.8\text{nm}$ para tratar 10 variedades de trigo primavera utilizando 6 dosis diferentes. Los resultados reportados en estos trabajos

mostraron un incremento en el porcentaje de germinación así como en la longitud de la parte aérea y parte terrestre de las plántulas de trigo. Los resultados dependieron de la dosis aplicada así como de la variedad de trigo considerada. La respuesta de estimulación no fue la misma para las diferentes variedades de trigo.

Salyaev et al. (2003, 2001) reportó el uso de un láser de He-Ne con longitud de onda $\lambda=632.8\text{nm}$ e intensidad de 10mW para tratar semillas de trigo. Los resultados reportados por el grupo de investigación mostraron que la radiación láser permite modificar la composición química y la estructura de los lípidos, lo que trae como consecuencia una mejora en los procesos morfo-genéticos del trigo.

Recientemente Qiu et al. (2007) reportó el uso de la radiación láser producida por un diodo láser con longitud de onda $\lambda=650\text{nm}$ e intensidad $I = 3.97 \text{ mW/mm}^2$ (397 mW/cm^2) para proteger las semillas de trigo contra el daño provocado por la radiación UV-B. Los resultados obtenidos mostraron que las semillas radiadas con este láser mejoraron la actividad de las enzimas antioxidantes mejorando así la respuesta hacia la radiación UV-B. De igual forma Qiu et al. (2007) reportó el uso de un láser de CO_2 para mejorar la respuesta de las semillas de trigo en condiciones de sequía.

De los trabajos anteriores se puede observar que la radiación láser permite mejorar las condiciones de crecimiento de las semillas de trigo. De igual forma es posible ver que los láseres que más se han utilizado para la estimulación de semillas de trigo son los láseres de He-Ne con longitud de onda $\lambda=632.8\text{nm}$, los láseres de bióxido de carbono con longitud de onda $\lambda=10600\text{nm}$ y los láseres de diodos con longitud de onda $\lambda=650\text{nm}$

Debido a la escasa información experimental acerca de los efectos de estimulación en semillas de trigo provocados por la radiación láser en el espectro rojo, rojo lejano e IR cercano, el presente trabajo tiene como objetivo principal el investigar si estos tipos de radiación, producidas por láseres de diodos con longitudes de onda de 660, 850, 904 y 980nm, estimulan el crecimiento del trigo variedad Náhuatl (*Triticum aestivum L*) en sus etapas iniciales de desarrollo de forma tal que se aporte evidencia en favor del uso de este método físico como alternativa a los métodos químicos utilizados actualmente para incrementar la producción de trigo en el país.

CAPÍTULO 2

DISEÑO DE LOS SISTEMAS

LÁSER

2.1 INTRODUCCIÓN

Como ya se mencionó con anterioridad los diodos láser son dispositivos que han ido adquiriendo una mayor importancia en el área de la fotoquímica y la fotobiología. Un diodo láser es un dispositivo semiconductor capaz de emitir radiación láser. Un láser de diodo es un sistema que incluye el diodo láser, la fuente de alimentación y los circuitos de control. El presente trabajo utilizó cuatro diodos láser con diferentes longitudes de onda 660, 850, 904 y 980nm. Los diodos láser con longitudes de onda de 660, 850 y 980nm fueron de onda continua mientras que el diodo láser con longitud de onda de 904nm fue de onda pulsada. Para trabajar con los diodos láser fue necesario desarrollar una fuente y un sistema de control que permitiera trabajar con estos cuatro dispositivos. El desarrollo del sistema incorporó el diseño y construcción de 3 circuitos electrónicos como fuente de alimentación y el desarrollo de la etapa de control a través de circuitos lógicos programables.

Los diodos láser utilizados para el diseño de la fuente de alimentación fueron de la compañía Roithner LaserTechnik:

- **ADL-66201TU.** Diodo láser de onda continua con longitud de onda de 660nm y potencia óptica de salida de 30mW. Su corriente de operación es de $I_{op}=70\text{mA}$.
- **RLT85100MG.** Diodo láser de onda continua con longitud de onda de 850nm y potencia óptica de salida de 100mW. Su corriente de operación es de $I_{op}=250\text{mA}$.
- **PLD904-10-MG.** Diodo láser de onda pulsada con longitud de onda de 904nm y potencia óptica de salida de 10W para un ciclo útil del 0.1%. Su corriente de operación es de $I_{op}=600\text{mA}$.
- **RLT980-250GS.** Diodo láser de onda continua con longitud de onda de 980nm y potencia óptica de salida de 250mW. Su corriente de operación es de $I_{op}=310\text{mA}$.

2.2 DISEÑO DE LA FUENTE DE ALIMENTACIÓN

Los diodos láser son dispositivos muy sensibles a las variaciones de corriente (Karr, 1979; Stockton, 1982; Kasap, 2001). Todos estos dispositivos tienen un valor de corriente de operación I_{op} en la cual entregarán la potencia óptica mencionada por el fabricante. Existe un valor de corriente máximo que no puede ser excedido ni por un instante, ya que esto dañará permanentemente el dispositivo. Este valor de corriente máximo, en la mayoría de los casos, es del 10% por arriba del valor de la corriente de operación.

La temperatura es otro factor que daña los diodos láser. La potencia óptica de salida depende de la temperatura. El control de la potencia óptica de salida bajo diferentes temperaturas de operación es un factor importante a controlar, ya que una potencia óptica de salida mayor a la especificada por el fabricante reducirá de forma importante el tiempo de vida del dispositivo.

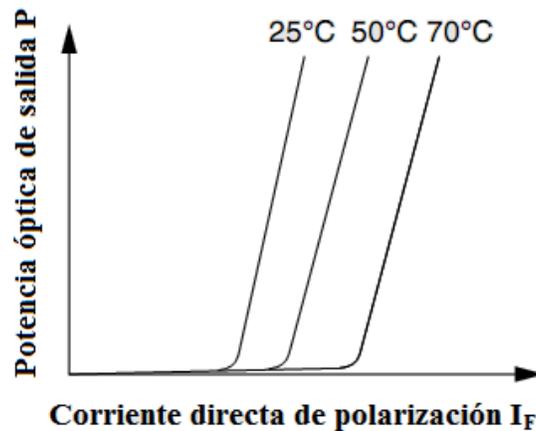


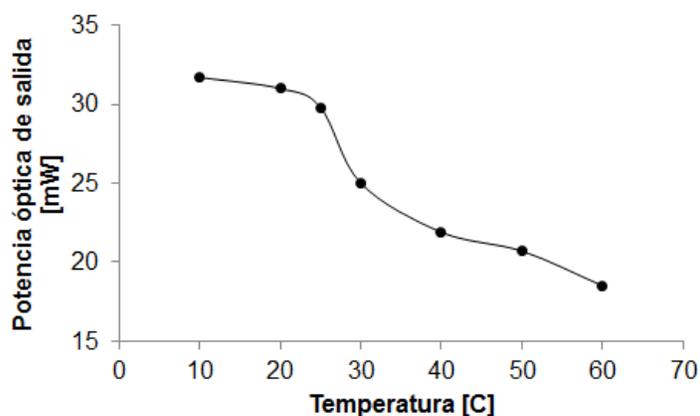
Figura 2.1. Curva de potencia óptica de salida vs corriente de polarización directa para diferentes temperaturas.

De la Figura 2.1 es posible observar que para una corriente directa de operación I_F la potencia óptica de salida varía inversamente con respecto a la temperatura.

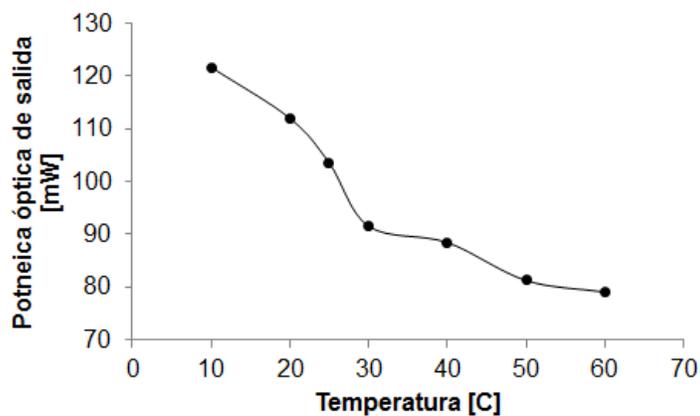
Para obtener una potencia óptica de salida constante en un intervalo de temperaturas es necesario introducir en el diseño un sistema de retroalimentación óptico utilizando un fotodiodo que monitoree la potencia óptica entregada por el diodo láser. También se puede

utilizar una fuente de corriente constante que alimente al diodo láser junto con un termistor y un sistema de enfriamiento termoeléctrico (TEC) para mantener al diodo láser en una temperatura constante. Ya sea que se seleccione el fotodiodo o el termistor como elementos sensores es necesario que estos dispositivos estén montados cerca del diodo láser para monitorear sus parámetros.

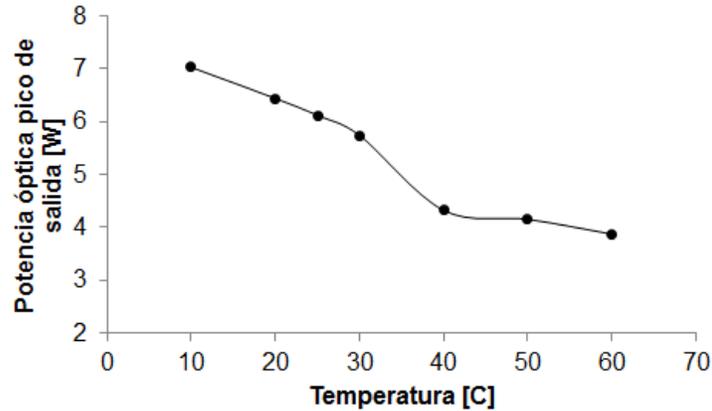
Para conocer la respuesta de los diodos láseres seleccionados se midió la potencia óptica de salida en función de la temperatura. Para estas mediciones se utilizó un radiómetro piroeléctrico calibrado eléctricamente modelo Rs5900 conectado a una punta de potencia piroeléctrica modelo RjP735 de la compañía Laser Probe, USA. A continuación se muestran las gráficas de potencia de salida contra la temperatura medidas en los diodos láser.



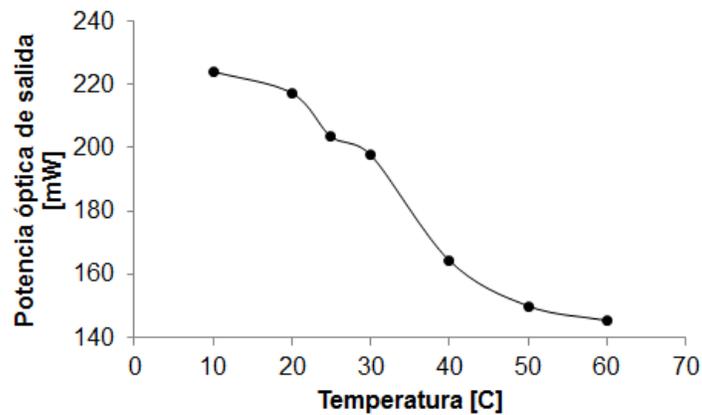
a)



b)



c)



d)

Figura 2.2. Graficas experimentales de la potencia óptica de salida contra la temperatura para los diodos láser con longitudes de onda a) 660 nm, b) 850 nm, c) 904 nm y d) 980 nm.

En la figura 2.2 se puede observar que la potencia óptica de salida en los diodos láser no está compensada para los incrementos en la temperatura.

Para poder compensar la potencia óptica de salida en función de la temperatura se analizaron tres circuitos: el primero consideró el uso de un termistor; el segundo consideró un transistor bipolar con un arreglo de diodos conectados a su base y el tercero considero dos transistores bipolares. Es importante mencionar que los dos últimos circuitos no utilizaron un termistor o un fotodiodo que controle la corriente que se le entrega al diodo láser. Todos los circuitos utilizaron los parámetros internos de los dispositivos semiconductores para llevar a cabo el control. Los circuitos propuestos permitieron

disminuir el tamaño, los costos y el consumo de energía debido a la eliminación del módulo TEC y el driver.

2.2.1 Circuito de alimentación de los diodos láser que incorpora un termistor para controlar la potencia óptica de salida

Este circuito propone el uso de un termistor con un coeficiente de temperatura negativo conectado a la base del transistor T_1 (figura 2.3). La función del termistor es la de compensar la corriente a través del diodo láser. Es importante ubicar el termistor lo más próximo al diodo láser.

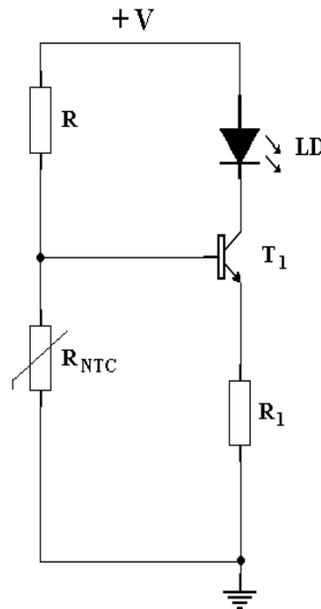


Figura 2.3. Circuito de alimentación de los diodos láser que incorpora un termistor como dispositivo de control.

En el circuito, cuando la temperatura del diodo láser se incrementa, la resistencia del termistor disminuye permitiendo de esta forma incrementar la corriente a través del diodo láser. Un problema que se observó en este circuito fue la no linealidad del termistor. Los termistores no presentan una respuesta lineal y esto hace que se tenga que caracterizar la respuesta del termistor para un intervalo de temperatura específico. De igual forma esta no linealidad y la velocidad de respuesta del termistor complica mucho el control térmico para

los diodos de 904 y 980nm ya que el termistor no puede seguir los cambios de temperatura óptimamente.

2.2.2 Circuito de alimentación de los diodos láser utilizando un arreglo de diodos en serie en la base de un transistor

Este circuito permite estabilizar la potencia óptica de salida de los diodos láser a través de una conexión serie de diodos en la base de un transistor. El número de diodos que deben de ser conectados depende del coeficiente de temperatura del diodo láser. Es importante mencionar que los diodos presentan un coeficiente de temperatura negativo que permiten regular la corriente que será entregada al transistor T.

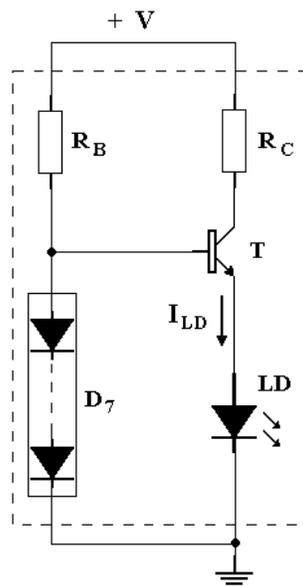


Figura 2.4. Circuito de alimentación de los diodos láser que incorpora un arreglo de diodos serie en la base de un transistor.

En el circuito cuando la temperatura del diodo láser se incrementa, ésta disminuye el voltaje a través de los diodos conectados a la base del transistor, lo que trae como consecuencia un incremento en la corriente de base del transistor T. Debido a este incremento en la corriente de base, la corriente a través del diodo láser se incrementa estabilizando así la potencia óptica del dispositivo.

Como consideraciones especiales es necesario que los diodos conectados a la base del transistor sean todos iguales. Con respecto a la resistencia R_B , ésta debe de tener un coeficiente de temperatura bajo para que no incida en la operación del circuito.

Un problema que se observó al tratar de implementar este circuito para los diodos láser de 904 y 980nm fue que el número de diodos era considerable, de 15 a 17 diodos. No fue posible colocar todos estos dispositivos cerca del diodo láser para que modificaran su voltaje con la temperatura del dispositivo. Esto trajo como consecuencia que el circuito funcionara de forma inestable no siendo una opción viable.

2.2.3 Circuito de alimentación de los diodos láser utilizando el coeficiente de temperatura negativo de las uniones base-emisor de dos transistores.

Este circuito provee a los diodos láser una corriente dependiente de la temperatura. Para que este circuito funcione es necesario que los dos transistores se ubiquen muy próximos al diodo láser. La magnitud de la corriente es la principal responsable de la temperatura del diodo.

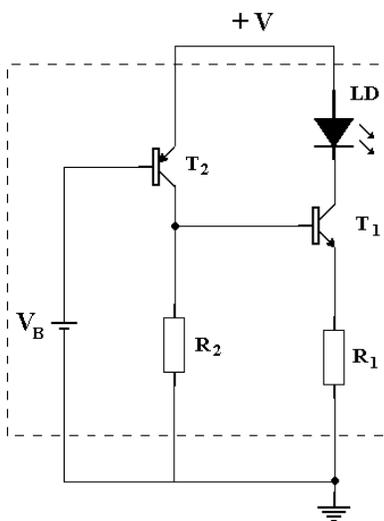
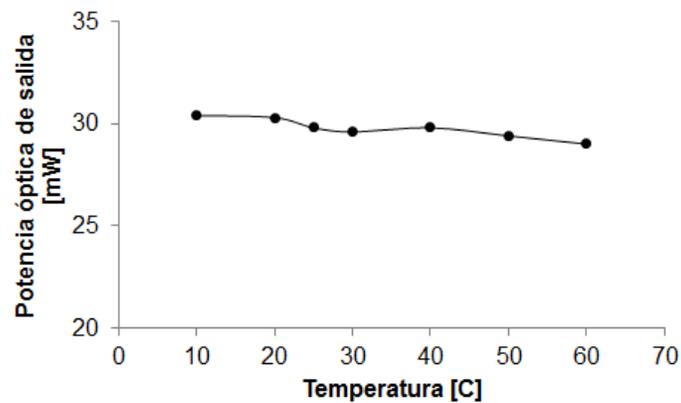


Figura 2.5. Circuito de alimentación de los diodos láser que utiliza el coeficiente de temperatura negativo de las uniones base-emisor de los transistores para controlar la potencia óptica de salida.

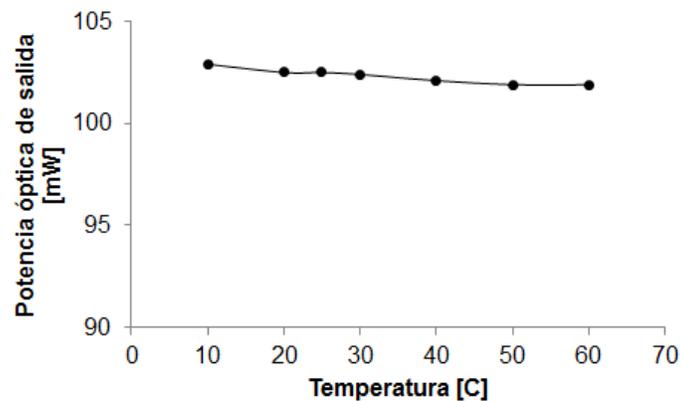
En este circuito las dos uniones base-emisor de los dos transistores bipolares presentan un coeficiente de temperatura negativo, esto hace que la corriente a través del diodo láser varíe directamente con respecto a la temperatura.

Una recomendación importante es que se deben de seleccionar los valores de V_B y R_2 para que sean compatibles con los coeficientes de temperatura de los transistores T_1 y T_2 .

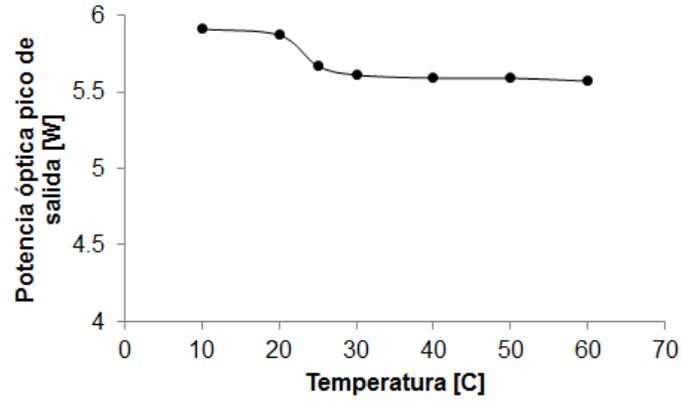
Este circuito, para los diodos láser utilizados en este trabajo, fue uno de los más útiles ya que los valores de las resistencias R_1 y R_2 quedaron fijos permitiendo de esta forma controlar la corriente de operación I_{op} a través de la fuente V_B . Los transistores utilizados fueron los 2N2222. El encapsulado metálico de estos transistores permitió que los voltajes base-emisor variaran de forma rápida con la temperatura.



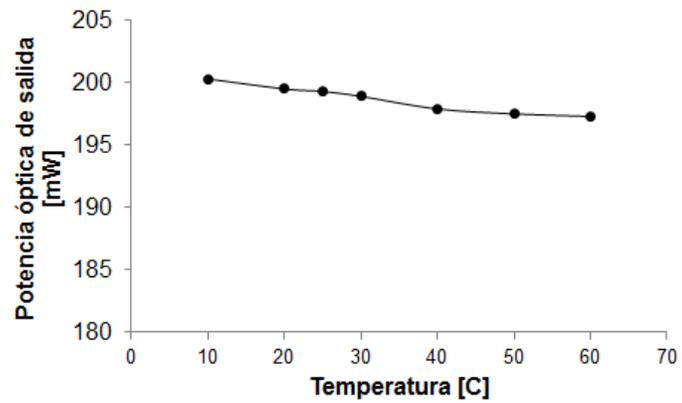
a)



b)



c)



d)

Figura 2.6. Graficas experimentales compensadas de la potencia óptica de salida contra la temperatura para los diodos láser con longitudes de onda a) 660 nm, b) 850 nm, c) 904 nm y d) 980 nm.

Como conclusión este circuito permitió compensar la potencia óptica de salida de los cuatro diodos láser para las variaciones de temperatura en un intervalo de 10 a 60° C (Figura 2.6).

CAPÍTULO 3

MATERIALES Y MÉTODOS

UTILIZADOS EN LA

EXPERIEMNTACIÓN CON

SEMILLAS DE TRIGO

3.1 EL TRIGO (*Triticum aestivum* L)

Como ya se mencionó con anterioridad, el trigo es el segundo grano más producido a nivel mundial con una producción, reportada por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), de 682 millones de toneladas métricas (Mt). En México desde el año de 1985 se ha observado una disminución paulatina en la producción de este grano (Villaseñor et al., 2007). Entre el año de 1996 y el año 2004 la importación de trigo pasó de 750 mil Mt a 3 millones de Mt de las 6 millones de Mt necesarias para satisfacer el consumo interno. En la actualidad la importación de trigo representa el 74.3% del total necesario para satisfacer la demanda interna.

En México existen dos ciclos de cultivo del trigo (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, México, SAGARPA). El ciclo Otoño-Invierno, en el cual se produce el 90% de la producción interna, y el ciclo Primavera-Verano, en el cual se produce el 10% restante de la producción interna. El ciclo de cultivo Primavera-Verano se ha considerado un ciclo de oportunidad para incrementar la producción anual de este grano en el país. Durante este ciclo de cultivo las semillas se siembran en un clima templado húmedo con temperaturas de entre 17 y 29° C, condiciones de humedad del 30% y alturas de entre los 1500 y 2300 metros sobre el nivel del mar.

La variedad de trigo seleccionada, variedad Náhuatl F2000, es utilizada en el ciclo de cultivo primavera-verano. Las semillas de trigo fueron proporcionadas por el Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP, México) y por el Centro Internacional de Mejora de Maíz y Trigo (CIMMYT, México). Esta variedad de trigo crece en las condiciones de temperatura, humedad y altitud del Distrito Federal, lugar en donde se llevó a cabo el desarrollo experimental. De esta forma, con esta investigación, se pretende dar información experimental que permita incrementar la producción de trigo en este ciclo de cultivo.

3.2 TRATAMIENTOS LÁSER

Una vez diseñadas las fuentes de alimentación de los diodos láseres, se procedió a definir los tratamientos láser a utilizar para investigar los efectos de estimulación en las semillas de trigo.

Los diodos laser utilizados fueron los siguientes:

1) Onda Continua:

- Láser rojo con longitud de onda $\lambda=660\text{nm}$ y potencia de salida $P=30\text{mW}$.
- Laser infrarrojo con longitud de onda $\lambda=850\text{nm}$ y potencia de salida $P=100\text{mW}$.
- Laser infrarrojo con longitud de onda $\lambda=980\text{nm}$ y potencia de salida $P=200\text{mW}$.

2) Onda Pulsada

- Láser infrarrojo con longitud de onda $\lambda=904\text{nm}$, Potencia pico $P_p = 6\text{W}$, ancho de pulso $\tau=200\text{ns}$, frecuencia de la señal $F=1500\text{ Hz}$.

Debido a que las radiaciones de los diodos láseres no son uniformes, sólo el área central con variaciones de potencia del 10%, con respecto a la potencia máxima, fueron consideradas para la radiación de las semillas de trigo. Esto se hizo con el fin de tener tratamientos más uniformes.

Los tratamientos láser para el tratamiento de las semillas de trigo se definieron de la siguiente forma:

1) Láser de diodo rojo de onda continua con longitud de onda $\lambda=660\text{nm}$.

- Exposición a una intensidad de $3.75\text{mW}/\text{cm}^2$ y cinco tiempos diferentes: 15s, 30s, 60s, 120s y 240s.
- Exposición a una intensidad de $7.5\text{mW}/\text{cm}^2$ y cinco tiempos diferentes: 15s, 30s, 60s, 120s y 240s.

- Exposición a una intensidad de 15mW/cm^2 y cinco tiempos diferentes: 15s, 30s, 60s, 120s y 240s.
- Exposición a una intensidad de 30mW/cm^2 y cinco tiempos diferentes: 15s, 30s, 60s, 120s y 240s.

2) Láser de diodo infrarrojo de onda continua con longitud de onda $\lambda=850\text{nm}$.

- Exposición a una intensidad de 6.25mW/cm^2 y cinco tiempos diferentes: 15s, 30s, 60s, 120s y 240s.
- Exposición a una intensidad de 12.5mW/cm^2 y cinco tiempos diferentes: 15s, 30s, 60s, 120s y 240s.
- Exposición a una intensidad de 25mW/cm^2 y cinco tiempos diferentes: 15s, 30s, 60s, 120s y 240s.
- Exposición a una intensidad de 50mW/cm^2 y cinco tiempos diferentes: 15s, 30s, 60s, 120s y 240s.
- Exposición a una intensidad de 100mW/cm^2 y cuatro tiempos diferentes: 15s, 30s, 60s, 120s y 240s.

3) Láser de diodo infrarrojo de onda continua con longitud de onda $\lambda=980\text{nm}$.

- Exposición a una intensidad de 15mW cm/cm^2 y cuatro tiempos diferentes: 15s, 30s, 60s, 120s y 240s.
- Exposición a una intensidad de 30mW/cm^2 y cuatro tiempos diferentes: 15s, 30s, 60s, 120s y 240s.
- Exposición a una intensidad de 60mW/cm^2 y cuatro tiempos diferentes: 15s, 30s, 60s, 120s y 240s.

4) Láser de diodo láser infrarrojo de onda pulsada con longitud de onda $\lambda=904\text{nm}$.

- Exposición a una intensidad de 0.9mW/cm^2 y cuatro tiempos diferentes: 15s, 30s, 60s, 120s y 240s.
- Exposición a una intensidad de 1.8mW/cm^2 y cuatro tiempos diferentes: 15s, 30s, 60s, 120s y 240s.

- Exposición a una intensidad de 3.6mW/cm^2 y cuatro tiempos diferentes: 15s, 30s, 60s, 120s y 240s.

En total se aplicaron 75 tratamientos de radiación láser diferentes. Cada tratamiento láser se aplicó una sola vez antes de la siembra a un grupo de 400 semillas.

3.3 PRUEBAS DE GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO

Las pruebas de germinación y de crecimiento fueron desarrolladas bajo condiciones de laboratorio de acuerdo a los lineamientos establecidos por la Asociación Internacional de prueba de Semillas (ISTA 2008, 2009 y 2010). El diseño experimental consistió de 16 repeticiones ($n=16$) con 25 semillas cada una para cada tratamiento láser. En total se consideraron 400 semillas por tratamiento láser.

Como primer paso de la parte experimental se seleccionó un tratamiento láser para radiar 400 semillas en grupos de 25 semillas cada uno. En total se elaboraron 16 grupos con 25 semillas cada uno. Después de haber tratado las semillas, estas fueron colocadas sobre papel filtro y enrolladas. Posteriormente el papel filtro con las semillas fue humedecido con la misma cantidad de agua destilada. A continuación el papel filtro con las semillas fue colocado dentro de bolsas de plástico, éstas fueron etiquetadas y ubicadas de forma aleatoria en una cámara de germinación por 10 días junto con su respectivo control. Para cada intensidad de la radiación láser (con sus diferentes tiempos de radiación) se utilizó un control, semillas si radiar, el cual fue preparado de la misma forma que las semillas tratadas. En total se prepararon 15 controles diferentes. La temperatura y humedad para las pruebas de germinación y crecimiento dentro de la cámara de germinación fue de 20 ± 2 C y de $90\pm 2\%$ respectivamente.

Para llevar a cabo las pruebas de germinación se realizaron conteos a los cuatro y diez días posteriores a la siembra. El conteo se hizo de acuerdo a los lineamientos establecidos por la ISTA. Después de los 10 días se calcularon los porcentajes de semillas germinadas y no germinadas.

Para evaluar el crecimiento de las plántulas de trigo, después del décimo día se midió la longitud del tallo y de las raíces. Todo esto se hizo para cada tratamiento de la radiación láser así como para los controles utilizados.

3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Antes de poder analizar la germinación y el crecimiento del coleoptilo y de las raíces fue necesario conocer el tipo de distribución que presentaban los datos obtenidos de forma experimental. Esto se hizo con el fin de seleccionar el tipo correcto de estadística inferencial evitando así la obtención de conclusiones erróneas.

Para conocer el tipo de distribución que presentaban los datos experimentales se propusieron las siguientes hipótesis estadísticas.

- H_a : Los datos obtenidos no presentan una distribución normal.
- H_o : Los datos obtenidos presentan una distribución normal.

Partiendo de estas hipótesis de investigación se procedió a comparar los datos obtenidos de forma experimental con distribuciones normales utilizadas para el crecimiento de las semillas de trigo. Para ello se utilizó primero el criterio de Kolmogorov-Smirnov y después se verificó el resultado con el criterio Shapiro-Wilk. Para ambos criterios la hipótesis H_a fue rechazada, por lo que se concluyó que los datos presentaban una distribución normal. Es importante mencionar que los criterios aplicados se emplean únicamente para muestras pequeñas, esto es, cuando el número de elementos por grupo es menor o igual que 30. Estas pruebas se realizaron en los 1440 grupos de semillas de trigo utilizados.

3.4.1 Pruebas de Germinación

Como ya se mencionó con anterioridad, para conocer la germinación de las semillas de trigo, después de 10 días se calcularon los porcentajes de semillas germinadas y no germinadas. A continuación se procedió a calcular la media, la varianza y la desviación estándar tanto de las semillas germinadas como de las no germinadas. Debido a que se conoce el tipo de distribución, y esta es normal, se realizó una prueba de t de Student para

encontrar diferencias significativas entre cada tratamiento láser y el control (Drozd, 1994, 1999; Podlesny, 2004, 2002; Wilczek, 2005, 2004).

3.4.2 Pruebas de crecimiento

Para analizar los efectos de la radiación láser sobre el crecimiento del coleoptilo y el sistema radicular, primero se calcularon las medias, las varianzas y las desviaciones estándar de todos los grupos. Posteriormente los datos se sometieron a un análisis de variancia (ANOVA) para detectar diferencias entre los parámetros de las medias. A continuación los parámetros de las medias fueron comparados utilizando la prueba de Tukey (prueba de comparaciones múltiples) para detectar diferencias entre el control y las plantas tratadas (Drozd, 1994, 1999; Podlesny, 2004, 2002; Wilczek, 2005, 2004). De esta forma se determinaron los efectos de la radiación láser sobre las semillas de trigo.

3.4.3 Consideraciones importantes de las pruebas estadísticas

Las pruebas de t de Student, la de ANOVA y la de Tukey entregan un coeficiente ρ llamado significancia estadística. Mientras más pequeño sea este valor, los efectos se diferencian más sobre el nivel de control. La significancia estadística presenta los siguientes valores:

- $\rho < 0.05$: Los efectos obtenidos no se diferencian del crecimiento del control, por lo que no se puede concluir algo de la muestra. Este valor se representa en las tablas y en las gráficas se representa con “*”.
- $\rho < 0.01$: Los efectos obtenidos se diferencian del crecimiento del control, aunque los efectos no presentan una amplitud máxima. Este valor se representa en las tablas y en las gráficas con “**”.
- $\rho < 0.001$: Los efectos obtenidos se diferencian del crecimiento del control y presentan una amplitud máxima. Este valor se representa en las tablas y en las gráficas con “***”.

Estos símbolos se incorporan en las gráficas y en las tablas para hacer notar los efectos de la radiación láser sobre las variables de interés.

CAPÍTULO 4

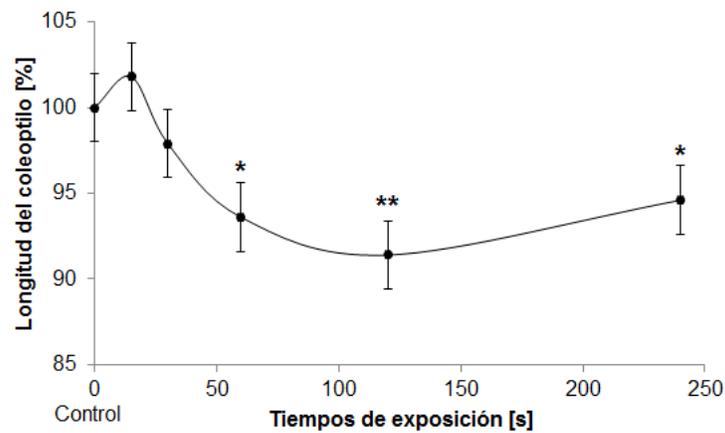
EFECTOS DE ESTIMULACIÓN

EN SEMILLAS DE TRIGO

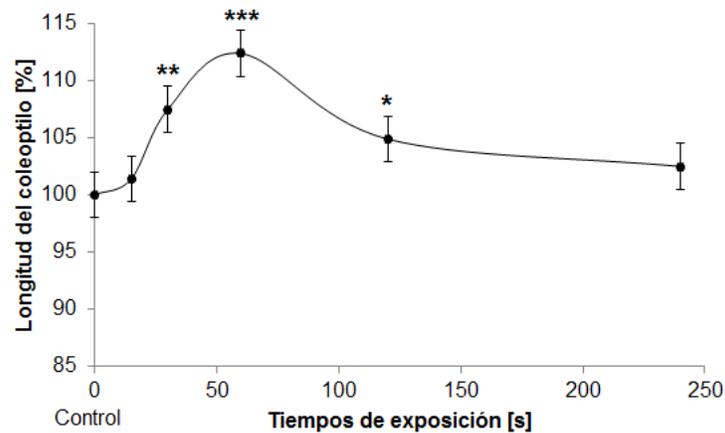
4.1 EFECTOS DE LA RADIACIÓN LÁSER SOBRE EL CRECIMIENTO DEL COLEOPTILO.

A continuación se muestran los efectos más importantes sobre el crecimiento del coleoptilo provocados por los diferentes láseres de diodos. Solo se muestran las gráficas que incorporan resultados estadísticamente significativos ($\rho < 0.01$ y $\rho < 0.001$).

4.1.1 Efectos provocados por la radiación láser roja con longitud de onda $\lambda = 660\text{nm}$



a)



b)

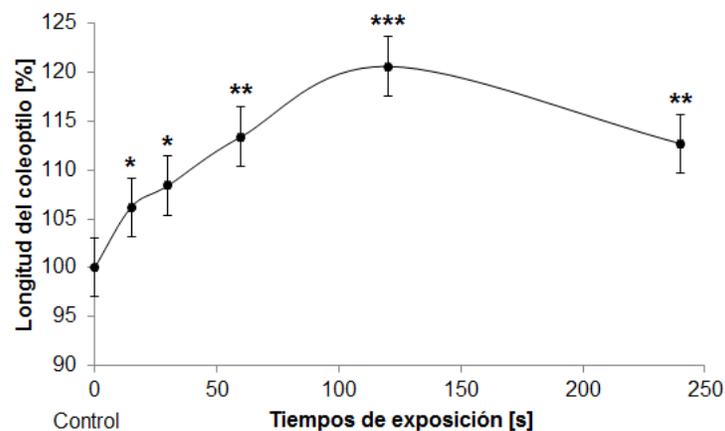
Figura 4.1. Crecimiento del coleoptilo para el láser de diodo con longitud de onda $\lambda = 660\text{nm}$ e intensidades de la radiación de a) $I = 3.75\text{mW/cm}^2$ y b) $I = 15\text{mW/cm}^2$.

En la figura 4.1 se pueden observar los efectos de la radiación láser con $\lambda=660\text{nm}$ sobre el crecimiento del coleoptilo para dos intensidades de la radiación láser, $3.75\text{mW}/\text{cm}^2$ y $15\text{mW}/\text{cm}^2$, de las 4 aplicadas en el tratamiento de las semillas de trigo. Las otras dos intensidades, $7.5\text{ mW}/\text{cm}^2$ y $30\text{mW}/\text{cm}^2$, no mostraron efectos significativos sobre el crecimiento del coleoptilo.

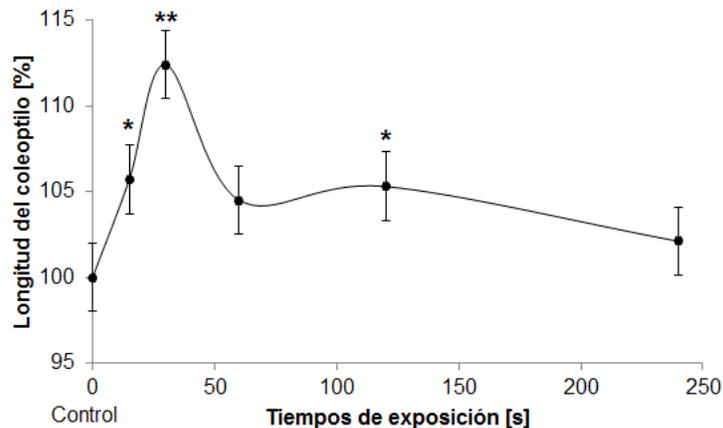
De la figura 4.1.a se puede observar que para todos los tiempos de exposición esta intensidad de la radiación láser desactivó el crecimiento del coleoptilo. El efecto de desactivación máximo se obtuvo para un tiempo de exposición de 120s con una disminución en el crecimiento del 8.6% ($\rho < 0.01$).

En la figura 4.1.b se pueden observar incrementos en la longitud del coleoptilo para esta intensidad de la radiación láser. Los efectos de mayor amplitud se obtuvieron para los tiempos de exposición de 30 y 60s con incrementos del 7.5 % y 12.4% respectivamente. Ambos tiempos de exposición produjeron efectos estadísticamente significativos con $\rho < 0.01$ y $\rho < 0.001$ respectivamente.

4.1.2 Efectos provocados por la radiación láser roja en el espectro lejano con longitud de onda $\lambda = 850\text{nm}$



a)



b)

Figura 4.2. Crecimiento del coleoptilo para el láser de diodo con longitud de onda $\lambda = 850\text{nm}$ e intensidades de la radiación de a) $I = 12.5\text{mW/cm}^2$ y b) $I = 50\text{mW/cm}^2$.

La figura 4.2 muestra los efectos de la radiación láser con longitud de onda $\lambda = 850\text{nm}$ sobre el crecimiento del coleoptilo para dos de las cinco intensidades aplicadas. Las intensidades que produjeron cambios estadísticamente significativos en el crecimiento del coleoptilo fueron 12.5mW/cm^2 (figura 4.2.a) y 50mW/cm^2 (figura 4.2.b).

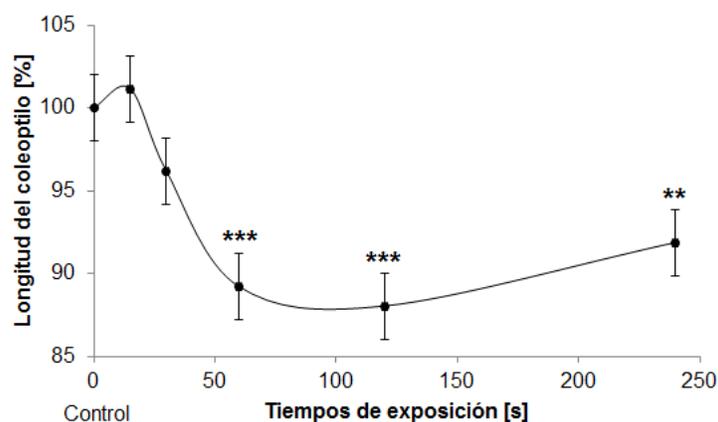
A diferencia de la radiación láser roja, esta radiación con longitud de onda $\lambda = 850\text{nm}$ solo produjo efectos de activación sobre el crecimiento del coleoptilo. En ningún caso se detectaron efectos de desactivación.

La figura 4.2.a muestra las activaciones obtenidas en el crecimiento del coleoptilo cuando las semillas de trigo fueron radiadas con una intensidad de 12.5mW/cm^2 . En esta gráfica se pueden observar 3 efectos de activación importantes: el primero para un tiempo de exposición de 60 s, el segundo para un tiempo de 120 s y el tercero para un tiempo de exposición de 240 s. El máximo efecto corresponde a un tiempo de exposición de 120s con un incremento en la longitud del coleoptilo del 20.6% ($p < 0.001$); a este efecto le siguen los obtenidos para los tiempos de 60 y 240s con incrementos del 13.4 y 12.7% respectivamente. Estos dos últimos tratamientos mostraron una significancia estadística $p < 0.01$.

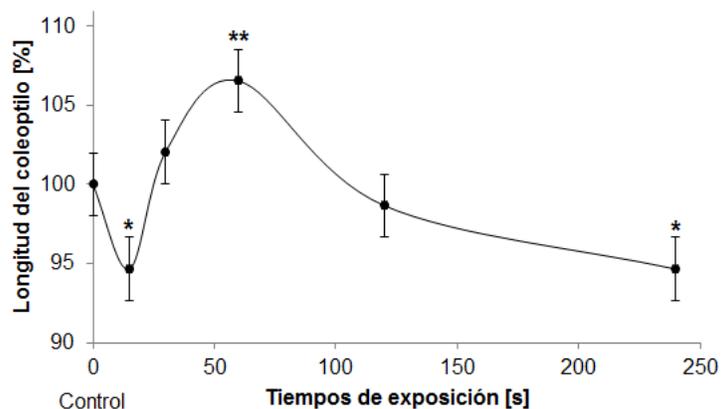
La figura 4.2.b muestra los efectos de activación obtenidos para el crecimiento del coleoptilo cuando las semillas de trigo fueron tratadas con una intensidad de la radiación de

$I=50\text{mW/cm}^2$. Para esta intensidad sólo se obtuvo un efecto de activación máximo para un tiempo de exposición de 30 s. La activación obtenida fue del 12.4% con una significancia estadística de $p<0.01$. Los demás tiempos de exposición para esta intensidad no mostraron cambios estadísticamente significativos.

4.1.3 Efectos provocados por la radiación láser infrarroja con longitud de onda $\lambda = 980\text{nm}$



a)



b)

Figura 4.3. Crecimiento del coleoptilo para el láser de diodo con longitud de onda $\lambda = 980\text{nm}$ e intensidades de la radiación de a) $I= 15\text{mW/cm}^2$ y b) $I= 60\text{mW/cm}^2$.

La figura 4.3 muestra el crecimiento del coleoptilo para dos de las 3 intensidades aplicadas. De esta figura se puede observar que la radiación láser infrarroja, para una intensidad de 15mW/cm^2 (figura 4.3.a), desactivó el crecimiento del coleoptilo registrando

las disminuciones máximas en los tiempos de exposición de 60 y 120s. Las disminuciones obtenidas fueron del 10.81 y 11.97% respectivamente. Ambos tratamientos fueron estadísticamente significativos ($p < 0.001$). Otro tratamiento que presentó una desactivación menor y que también fue estadísticamente significativo ($p < 0.01$) corresponde al tiempo de exposición de 240s. La disminución producida por este tratamiento fue de 8.13%.

Para una intensidad de la radiación láser de 60mW/cm^2 (figura 4.3.b) se detectó un incremento máximo en la longitud del coleoptilo del 6.5% con una significancia estadística de $p < 0.01$ para una tiempo de exposición de 60s. Este fue el único efecto de activación estadísticamente significativo obtenido para este láser de diodo.

4.1.4 Efectos provocados por la radiación láser infrarroja pulsada con longitud de onda $\lambda = 904\text{nm}$

Es necesario recordar que este láser, a diferencia de los anteriores, es de onda pulsada. La radiación de este láser no produjo efectos estadísticamente significativos sobre el crecimiento del coleoptilo, lo que significa que no hubo cambios en su desarrollo.

De todos los láseres utilizados solo los láseres de onda continua ($\lambda=660\text{nm}$, $\lambda=850\text{nm}$ y $\lambda=980\text{nm}$) permitieron activar y desactivar el crecimiento del coleoptilo. El láser pulsado utilizado ($\lambda=904\text{nm}$) no cambió el comportamiento del crecimiento del coleoptilo.

4.2 EFECTOS DE LA RADIACIÓN LÁSER SOBRE EL CRECIMIENTO DEL SISTEMA RADICULAR

A continuación se muestran los efectos más importantes provocados por la radiación láser sobre el crecimiento del sistema radicular. Al igual que para el crecimiento del coleoptilo, solo se muestran las gráficas que incorporan resultados estadísticamente significativos ($\rho < 0.01$ y $\rho < 0.001$).

4.2.1 Efectos provocados por la radiación láser roja con longitud de onda $\lambda = 660\text{nm}$

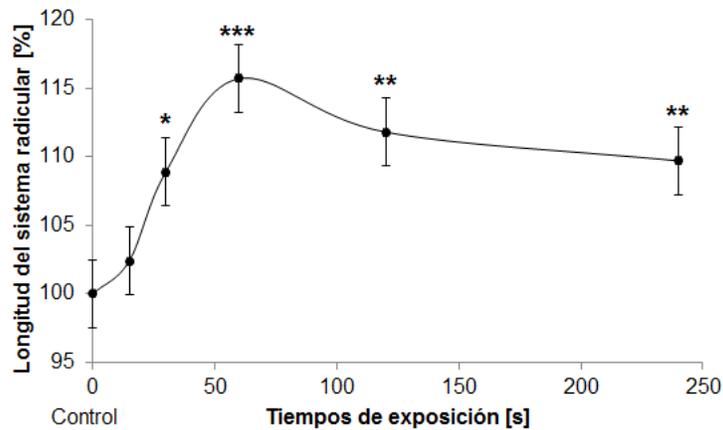
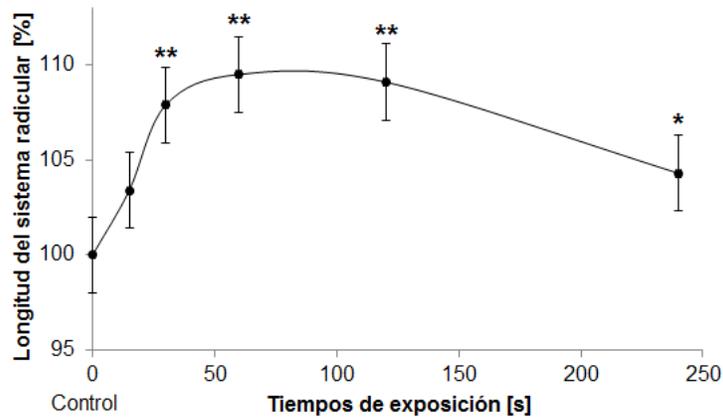


Figura 4.4. Crecimiento del sistema radicular para el láser de diodo con longitud de onda $\lambda = 660\text{nm}$ e intensidad de la radiación de $I = 15\text{mW/cm}^2$.

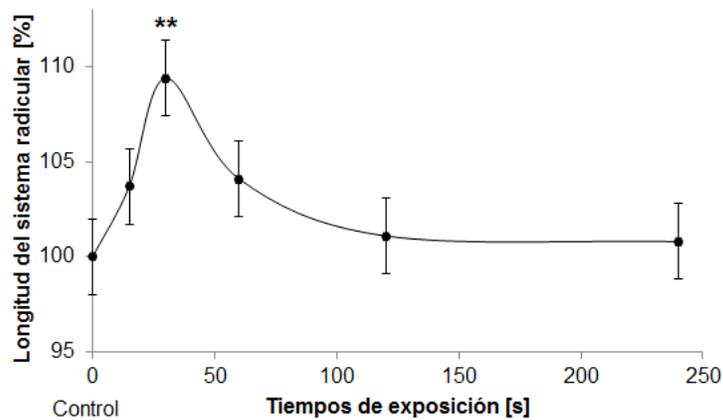
La figura 4.4 muestra los efectos de la radiación láser con $\lambda = 660\text{nm}$ sobre el crecimiento del sistema radicular en semillas de trigo. Para esta longitud de onda sólo la intensidad de 15mW/cm^2 produjo cambios significativos en el crecimiento del sistema radicular. Los efectos de activación más importantes de obtuvieron para los tiempos de exposición de 60, 120 y 240s; los incrementos en la longitud del sistema radicular fueron del 15.7%, 11.8% y 9.7% respectivamente. El efecto de mayor crecimiento, obtenido para el tiempo de 60s, mostró una significancia estadística de $\rho < 0.001$, mientras que los otros dos tiempos, 120 y 240s, tuvieron una significancia estadística de $\rho < 0.01$.

Las demás intensidades de la radiación láser para esta longitud de onda no mostraron cambios estadísticamente significativos.

4.2.2 Efectos provocados por la radiación láser roja en el espectro lejano con longitud de onda $\lambda = 850\text{nm}$



a)



b)

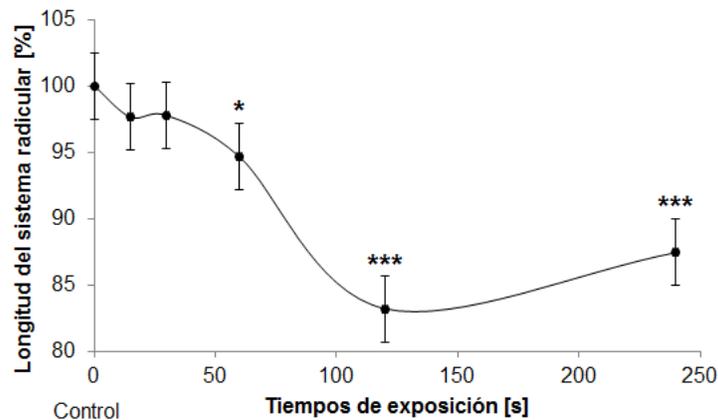
Figura 4.5. Crecimiento del sistema radicular para el láser de diodo con longitud de onda $\lambda = 850\text{nm}$ e intensidades de la radiación de a) $I = 12.5\text{mW/cm}^2$ y b) $I = 50\text{mW/cm}^2$.

La figura 4.5 muestra los efectos de la radiación láser roja en el espectro lejano con longitud de onda $\lambda = 850\text{nm}$ sobre el crecimiento del sistema radicular en las semillas de trigo. Las dos intensidades que mostraron efectos estadísticamente significativos sobre esta variable fueron 12.5mW/cm^2 y 50mW/cm^2 . Ambas intensidades activaron el crecimiento del sistema radicular.

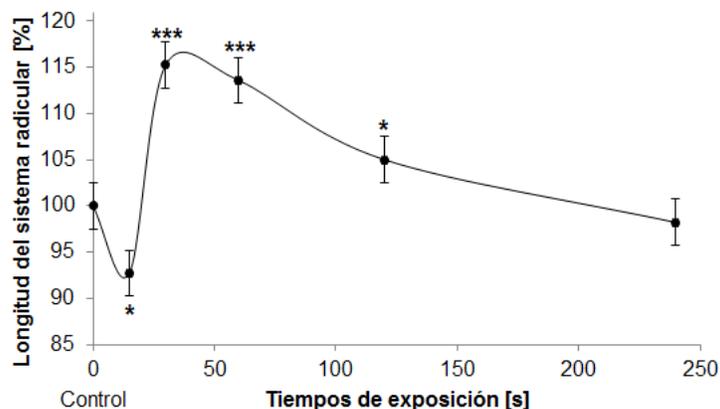
La figura 4.5.a muestra el crecimiento del sistema radicular para una intensidad de la radiación láser de $I=12.5\text{mW/cm}^2$. Los efectos de activación más importantes se obtuvieron para los tiempos de exposición de 30, 60 y 120s con magnitudes de 8.4%, 13.4% y 12.7% respectivamente. El valor de la significancia estadística para estos tres tratamientos fue de $\rho<0.01$.

En la figura 4.5.b se muestran los efectos de la intensidad $I=50\text{mW/cm}^2$ sobre el crecimiento del sistema radicular. Para esta intensidad sólo se obtuvo una activación máxima y estadísticamente significativa ($\rho<0.01$) para el tiempo de exposición de 30s. La activación obtenida en el crecimiento de esta variable fue del 9.4%. Los demás tiempos de exposición no produjeron cambios importantes (estadísticamente significativos) sobre el crecimiento del sistema radicular.

4.2.3 Efectos provocados por la radiación láser infrarroja con longitud de onda $\lambda = 980\text{nm}$



a)



b)

Figura 4.6. Crecimiento del sistema radicular para el láser de diodo con longitud de onda $\lambda = 980\text{nm}$ e intensidades de la radiación de a) $I = 15\text{mW/cm}^2$ y b) $I = 60\text{mW/cm}^2$.

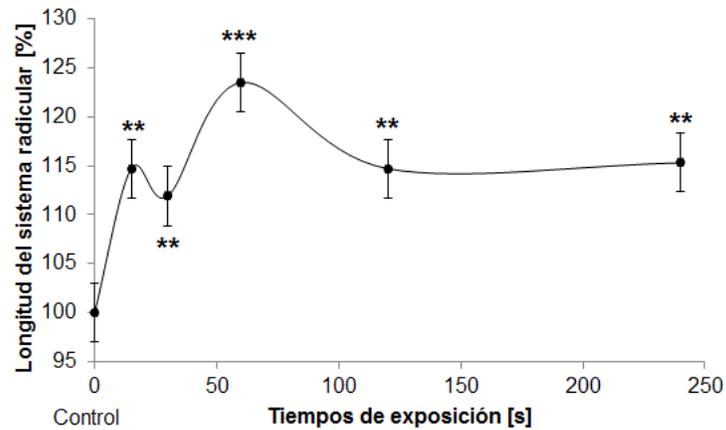
La figura 4.6 muestra los efectos de la radiación láser infrarroja con longitud de onda $\lambda = 980\text{nm}$ sobre el crecimiento del sistema radicular. Para esta longitud de onda sólo dos intensidades de la radiación láser produjeron cambios estadísticamente significativos sobre el crecimiento del sistema radicular 15mW/cm^2 y 60mW/cm^2 . Los efectos observados por estas intensidades fueron de desactivación y activación respectivamente.

De la figura 4.6.a se puede observar que la intensidad de la radiación láser $I = 15\text{mW/cm}^2$ desactivó principalmente el crecimiento del sistema radicular en las semillas de trigo. Los efectos de desactivación de mayor amplitud se obtuvieron para los tiempos de exposición de 120 y 240s siendo estos de 11.96% y 8.13% respectivamente. La significancia estadística para estos dos tratamientos fue de $p < 0.01$. Los demás tiempos de exposición no mostraron cambios estadísticamente significativos.

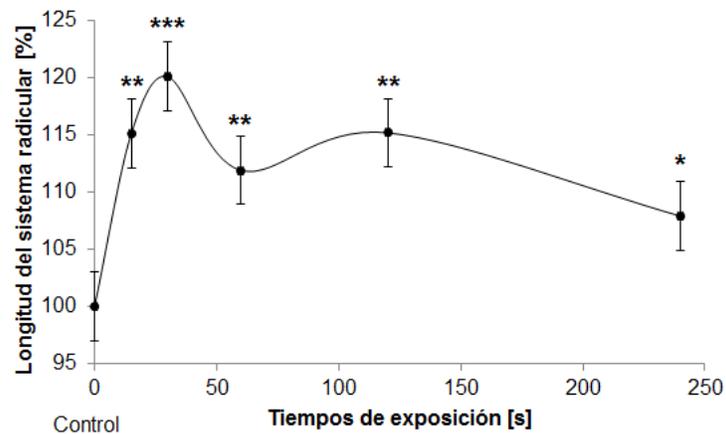
La figura 4.6.b muestra los efectos de activación en el crecimiento del sistema radicular para la intensidad de la radiación de 60mW/cm^2 . Los efectos de activación de mayor amplitud se obtuvieron para los tiempos de exposición de 30 y 60s. Las magnitudes de estas activaciones fueron del 15.27% y 13.6% respectivamente ambas con un valor de significancia estadística de $p < 0.001$. Los demás tiempos de exposición no produjeron cambios importantes (estadísticamente significativos) sobre el crecimiento del sistema radicular.

4.2.4 Efectos provocados por la radiación láser infrarroja pulsada con longitud de onda $\lambda = 904\text{nm}$

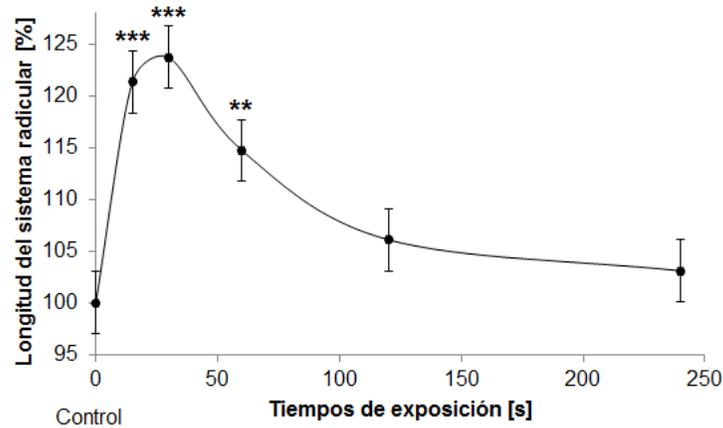
A diferencia de los resultados obtenidos en la sección 4.1 sobre el crecimiento del coleoptilo en esta longitud de onda, el crecimiento del sistema radicular reportó cambios estadísticamente significativos para las tres intensidades de la radiación láser aplicadas.



a)



b)



c)

Figura 4.7. Crecimiento del sistema radicular para el láser de diodo pulsado con longitud de onda $\lambda = 904\text{nm}$ e intensidades de la radiación de a) $I= 0.9\text{mW}/\text{cm}^2$, b) $I= 1.8\text{mW}/\text{cm}^2$ y c) $I= 3.6\text{mW}/\text{cm}^2$.

De la figura 4.7 se puede observar que para esta longitud de onda todas las intensidades tuvieron efectos de activación estadísticamente significativos sobre el crecimiento del sistema radicular.

La figura 4.7.a muestra los efectos de activación obtenidos sobre el crecimiento del sistema radicular para una intensidad de la radiación láser de $I=0.9\text{mW}/\text{cm}^2$. Todos los tiempos de exposición produjeron incrementos estadísticamente significativos en el desarrollo el sistema radicular. El efecto de máxima amplitud, con valor de 23.5 % y $\rho<0.001$, se obtuvo para un tiempo de exposición de 60 s. A este crecimiento le siguieron los obtenidos para los tiempos de exposición de 15, 30, 120 y 240, todos ellos con una significancia estadística de $\rho<0.01$.

Al igual que la figura anterior, la figura 4.7.b muestra los efectos de activación obtenidos en el crecimiento del sistema radicular pero ahora para una intensidad de la radiación láser de $I=1.8\text{mW}/\text{cm}^2$. Para esta intensidad el efecto de máxima amplitud se obtuvo para un tiempo de exposición de 30s con valor de 20.1% ($\rho<0.001$). Los otros tiempos de exposición, 15, 60 y 120s, incrementaron la longitud del sistema radicular en menor magnitud. Los incrementos producidos por estos tiempos fueron de 15.1%, 11.9% y 15.2%; todos ellos con significancia estadística de $\rho<0.01$.

Por último la figura 4.7.c también muestra los efectos de activación sobre el crecimiento del sistema radicular pero ahora para una intensidad de la radiación láser de $I=3.6\text{mW/cm}^2$. Para esta intensidad de la radiación láser solo se obtuvieron tres efectos de activación siendo dos de ellos máximos. Estos efectos máximos se obtuvieron para los tiempos de exposición de 15 y 30s con valores de 21.3% y 23.7%. En ambos casos la significancia estadística fue de $p<0.001$. El tercer efecto de activación de menor amplitud y estadísticamente significativo ($p<0.01$) se obtuvo para un tiempo de exposición de 60s. Esta activación tuvo un valor de 14.7% sobre el nivel de control.

De esta forma se puede concluir que este laser produjo los efectos de activación de mayor amplitud sobre el crecimiento del sistema radicular en comparación con los obtenidos para los demás láseres.

4.3 EFECTOS DE LA RADIACIÓN LÁSER SOBRE LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE TRIGO

En esta sección se muestran los efectos de los diferentes láseres de diodos sobre la germinación de las semillas de trigo. Las variables analizadas fueron el porcentaje de semillas germinadas y el porcentaje de semillas no germinadas. Es importante observar en estas tablas que un cambio en el porcentaje de semillas germinadas también se refleja en el porcentaje de semillas no germinadas. Así un incremento en el porcentaje de semillas germinadas se verá relegado como una disminución en el porcentaje de semillas no germinadas y viceversa.

4.3.1 Efectos provocados por la radiación láser roja con longitud de onda $\lambda = 660\text{nm}$

A continuación en las tablas 4.1, 4.2, 4.3 y 4.4 se muestran los efectos de la radiación láser roja con longitud de onda $\lambda=660\text{ nm}$ sobre la germinación de las semillas de trigo.

Tabla 4.1. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser I=3.75mW/cm².

Tiempos de Exposición [s]	Semillas germinadas [%]	Semillas no germinadas [%]
Control	93.4	6.6
15	94.5	5.5
30	95.1	4.9
60	94.4	5.6
120	91.2	8.8
240	92.3	7.7

Tabla 4.2. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser I=7.5mW/cm².

Tiempos de Exposición [s]	Semillas germinadas [%]	Semillas no germinadas [%]
Control	95.4	4.6
15	94.4	5.6
30	93.9	6.1
60	94.1	5.9
120	95.1	4.9
240	94.8	5.2

Tabla 4.3. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser I=15mW/cm².

Tiempos de Exposición [s]	Semillas germinadas [%]	Semillas no germinadas [%]
Control	96.1	3.9
15	95.3	4.7
30	94.7	5.3
60	95.4	4.6
120	94.4	5.6
240	95.5	4.5

Tabla 4.4. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser I=30mW/cm².

Tiempos de Exposición [s]	Semillas germinadas [%]	Semillas no germinadas [%]
Control	95.1	4.9
15	94.6	5.4
30	94.4	5.6
60	94.7	5.3
120	95.1	4.9
240	95.3	4.7

El análisis estadístico aplicado a los datos obtenidos para estas cuatro intensidades de la radiación láser no mostró diferencias estadísticas significativas, por lo que se puede

concluir que este tipo de radiación láser, para las intensidades y tiempos aplicados, no produce cambios en la germinación de las semillas de trigo.

4.3.2 Efectos provocados por la radiación láser roja en el espectro lejano con longitud de onda $\lambda = 850\text{nm}$

De la tabla 4.5 a la tabla 4.9 se muestran los efectos de la radiación láser roja en el espectro lejano con longitud de onda $\lambda=850\text{ nm}$ sobre la germinación de las semillas de trigo.

La tabla 4.5 muestra las diferentes germinaciones obtenidas en el trigo para una intensidad de la radiación láser $I = 6.25\text{mW/cm}^2$. El análisis estadístico aplicado a los datos antes obtenidos no mostro significancias estadísticas, por lo que se concluye que esta intensidad de la radiación láser, para los diferentes tiempos de exposición considerados, no produce efectos sobre la germinación de las semillas de trigo.

Tabla 4.5. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=6.25\text{mW/cm}^2$.

Tiempos de Exposición [s]	Semillas germinadas [%]	Semillas no germinadas [%]
Control	94.2	5.8
15	93.1	6.9
30	93.5	6.5
60	94.1	5.9
120	96.3	3.7
240	93.4	6.6

En la tabla 4.6 se muestran los efectos de la radiación láser sobre la germinación de las semillas de trigo para una intensidad de la radiación de $I=12.5\text{mW/cm}^2$. De la tabla se pude observar que la radiación láser produce dos decrementos importantes en el porcentaje de semillas germinadas. Estos decrementos se obtuvieron para los tiempos de exposición de 120 y 240s. La máxima disminución en la germinación se obtuvo para el tiempo de exposición de 120s con un valor de 12% ($p<0.001$), mientras que la otra disminución se obtuvo para el tiempo de exposición de 240 s con un valor de 6.9% ($p<0.01$). Es importante observar que la radiación láser permite desactivar la germinación de las semillas, incrementando de esta forma el porcentaje de semillas no germinadas.

Tabla 4.6. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser I=12.5mW/cm².

Tiempos de Exposición [s]	Semillas germinadas [%]	Semillas no germinadas [%]
Control	93.1	6.9
15	94.7	5.3
30	95.1	4.9
60	92.1	7.9
120	81.1	17.9 ***
240	86.2	13.8 **

La tabla 4.7 muestra los efectos de la radiación láser con intensidad de I=25mW/cm² sobre la germinación de las semillas de trigo. De la tabla se puede observar que conforme se incrementa el tiempo de exposición de la radiación láser, el porcentaje de semillas germinadas disminuye hasta alcanzar un valor máximo de 12.5% ($p < 0.001$) para un tiempo de exposición de 30s. Después de este tiempo, el porcentaje de semillas germinadas comienza a incrementar hasta llegar a un valor de germinación normal (valor de control) en 240s. Las disminuciones en el porcentaje de semillas germinadas obtenidas para esta intensidad de la radiación laser presentaron valores estadísticamente significativos.

Tabla 4.7. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser I=25mW/cm².

Tiempos de Exposición [s]	Semillas germinadas [%]	Semillas no germinadas [%]
Control	94.1	5.9
15	85.3	14.7 **
30	81.6	18.4 ***
60	83.4	16.6 ***
120	91.2	8.8
240	93.1	6.9

En la tabla 4.8 se muestran los efectos de la radiación láser con intensidad de I=50mW/cm² sobre la germinación de las semillas de trigo. En la tabla se puede observar que al incrementar el tiempo de exposición, en 15 s, se llega a un incremento máximo en el porcentaje de germinación de 7.1% ($p < 0.01$). Si se continúa incrementando el tiempo de exposición el porcentaje de semillas germinadas comienza a disminuir hasta alcanzar un valor máximo de 11% ($p < 0.001$) para un tiempo de exposición de 120s. Después de este tiempo de exposición, el porcentaje de germinación nuevamente comienza a incrementar.

Es importante observar que por primera vez se encuentra un efecto de incremento sobre el porcentaje de germinación el cual es estadísticamente significativo.

Tabla 4.8. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser I=50mW/cm².

Tiempos de Exposición [s]	Semillas germinadas [%]	Semillas no germinadas [%]
Control	92.1	7.9
15	99.2	0.8 **
30	93.1	6.9
60	88.4	11.6
120	82.1	17.9 ***
240	86.3	13.7 **

En la tabla 4.9 se muestran los porcentajes de germinación obtenidos al radiar las semillas de trigo con una intensidad de I=100mW/cm² y diferentes tiempos de exposición. El análisis estadístico aplicado a los datos obtenidos para esta intensidad de la radiación láser no mostró cambios estadísticamente significativos, por lo que se concluye que esta intensidad de la radiación láser no modifica el porcentaje de semillas germinadas.

Tabla 4.9. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser I=100mW/cm².

Tiempos de Exposición [s]	Semillas germinadas [%]	Semillas no germinadas [%]
Control	94.7	5.3
15	95.4	4.6
30	96.1	3.9
60	95.3	4.7
120	94.3	5.7
240	94.5	5.5

4.3.3 Efectos provocados por la radiación láser infrarroja con longitud de onda $\lambda = 980nm$

Las tablas 4.10, 4.11 y 4.12 muestran los efectos de la radiación láser infrarroja con longitud de onda $\lambda=980nm$ sobre la germinación de las semillas de trigo.

Tabla 4.10. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser I=15mW/cm².

Tiempos de Exposición [s]	Semillas germinadas [%]	Semillas no germinadas [%]
Control	96.0	4.0
15	93.3	6.7
30	96.0	4.0
60	93.7	6.3
120	98.7	1.3
240	97.3	2.7

Tabla 4.11. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser I=30mW/cm².

Tiempos de Exposición [s]	Semillas germinadas [%]	Semillas no germinadas [%]
Control	95.1	4.9
15	94.7	5.3
30	93.3	6.7
60	93.4	6.6
120	93.3	6.7
240	92.0	8.0

Tabla 4.12. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser I=60mW/cm².

Tiempos de Exposición [s]	Semillas germinadas [%]	Semillas no germinadas [%]
Control	94.3	5.7
15	96.0	4.0
30	93.3	6.7
60	93.3	6.7
120	94.7	5.3
240	91.7	8.3

El análisis estadístico aplicado a todos los datos de germinación obtenidos para esta longitud de onda no mostro cambios estadísticamente significativos, por lo que se concluye que este tipo de radiación láser no produce cambios sobre la germinación de las semillas de trigo.

4.3.4 Efectos provocados por la radiación láser infrarroja pulsada con longitud de onda $\lambda = 904\text{nm}$

Finalmente las tablas 4.13, 4.14 y 4.15 muestran los efectos de la radiación láser infrarroja pulsada con longitud de onda $\lambda=904\text{nm}$ sobre la germinación de las semillas de trigo.

Tabla 4.13. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=0.9\text{mW/cm}^2$.

Tiempos de Exposición [s]	Semillas germinadas [%]	Semillas no germinadas [%]
Control	94.7	5.3
15	97.3	2.7
30	94.7	5.3
60	94.7	5.3
120	97.3	2.7
240	94.7	5.3

Tabla 4.14. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=1.8\text{mW/cm}^2$.

Tiempos de Exposición [s]	Semillas germinadas [%]	Semillas no germinadas [%]
Control	94.7	5.3
15	97.3	2.7
30	97.3	2.7
60	92.0	8.0
120	96.0	4.0
240	94.7	5.3

Tabla 4.15. Porcentajes de germinación de las semillas de trigo para la intensidad de la radiación láser $I=3.6\text{mW/cm}^2$.

Tiempos de Exposición [s]	Semillas germinadas [%]	Semillas no germinadas [%]
Control	94.7	5.3
15	97.3	2.7
30	96.0	4.0
60	94.7	5.3
120	96.1	3.9
240	92.7	7.3

Al igual que para la longitud de onda $\lambda=980\text{nm}$, el análisis estadístico aplicado a los datos de germinación obtenidos no mostro significancias estadísticas, de ahí que también se

concluya que este tipo de radiación láser no produce cambios sobre la germinación de las semillas de trigo.

CAPÍTULO 5

DISCUSIÓN DE LOS

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

5.1 DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Existen diversos trabajos que mencionan la importancia del tipo de luz para estimular e inhibir el crecimiento de los sistemas biológicos. Shimizu-Sato et al. (2002) desarrollaron un sistema promotor de genes el cual se puede activar y desactivar a través de la respuesta de los fitocromos. Para llevar a cabo los procesos de activación y desactivación de los fitocromos se utilizó luz pulsada roja y luz pulsada roja en el espectro lejano. Las características de la luz como la longitud de onda, la intensidad de esta y los tiempos de exposición a la radiación no son mencionadas por lo que se complica el reproducir estos experimentos en laboratorio. Esta misma deficiencia se presenta en el trabajo de Levskaya et al. (2009). En este trabajo se desarrolló un sistema a base de fitocromos el cual también puede ser activado y desactivado con el uso de luz roja y luz roja en el espectro lejano. Pese a que en este trabajo se mencionan las longitudes de onda para llevar a cabo dichos procesos, 650 y 750 nm respectivamente, las demás características de la luz como el tiempo que se requiere aplicar esta radiación, así como la intensidad de la misma tampoco son especificados. De los resultados obtenidos en el presente trabajo (tesis) se puede observar que es posible activar y desactivar un sistema biológico para una misma longitud de onda, por lo que no solo basta mencionar que es posible activar y desactivar los procesos de crecimiento con luz roja y luz roja en el espectro lejano; es necesario especificar los parámetros que producen los respectivos cambios. Además la luz infrarroja también permite obtener efectos de activación y desactivación pero de mayor amplitud que los obtenidos con la luz roja y la luz roja en el espectro lejano.

Los resultados obtenidos tanto para el crecimiento del coleoptilo como para el crecimiento del sistema radicular demuestran que para una misma longitud de onda se pueden producir efectos de activación y desactivación en el crecimiento del trigo. La respuesta de crecimiento no está determinada únicamente por la longitud de onda, sino también por la intensidad de la radiación y el tiempo de exposición. De esta forma podemos observar activaciones y desactivaciones importantes para una misma longitud de onda pero con intensidades y tiempos de exposición diferentes. Aunque en diversos trabajos se menciona lo anterior (Aladjadjiyan, 2007; Drozd, 1994, 1999; Salyaev, 2003, 2001;

Vasilevski, 2003), la dependencia de la respuesta de crecimiento de las variables antes mencionadas nunca es especificada.

De los resultados obtenidos para el crecimiento del coleoptilo podemos observar que sólo los láseres de onda continua produjeron cambios en el crecimiento de esta variable. El láser de onda pulsada no produjo cambios estadísticamente significativos.

Relacionado con el crecimiento del coleoptilo tanto el láser rojo, con longitud de onda $\lambda=660\text{nm}$, como el láser infrarrojo, con longitud de onda $\lambda=980\text{nm}$, produjeron efectos de desactivación en el crecimiento de esta variable. El efecto de desactivación máximo, con valor de 11.97%, lo produjo el láser infrarrojo con longitud de onda $\lambda=980\text{nm}$ para una intensidad de la radiación de $15\text{mW}/\text{cm}^2$ y tiempo de exposición de 120s (figura 4.3.a). En el caso de los procesos de activación del crecimiento del coleoptilo, la máxima activación, con valor del 20.6%, se produjo para el láser rojo en el espectro lejano con longitud de onda $\lambda=850\text{nm}$, intensidad $I=12.5\text{mW}/\text{cm}^2$ y tiempo de exposición de 120s (figura 4.2.a).

El sistema radicular de las semillas de trigo también mostro efectos de activación y desactivación en su crecimiento causados por la radiación láser. Los efectos de mayor amplitud, tanto de activación como de desactivación, se observaron para los láseres infrarrojos. La activación máxima, con valor de 23.7%, se produjo para el láser infrarrojo pulsado con longitud de onda $\lambda=904\text{nm}$, intensidad $I= 3.6\text{mW}/\text{cm}^2$ y tiempo de exposición de 30s (figura 4.7.c) mientras que la desactivación máxima, con valor del 11.96%, se obtuvo para el láser infrarrojo con longitud de onda $\lambda=980\text{nm}$, intensidad $I=15\text{mW}/\text{cm}^2$ y tiempo de exposición de 120s (figura 4.6.a).

La germinación de las semillas de trigo no se vio muy afectada por la radiación láser. Esto se debe a que las semillas utilizadas en la parte experimental eran de muy buena calidad, esto es, sus parámetros de crecimiento no estaban modificados por el paso del tiempo (semillas envejecidas). El único láser que modificó la germinación del trigo fue el láser rojo en el espectro lejano con longitud de onda $\lambda=850\text{nm}$. Este láser permitió desactivar la germinación de las semillas de trigo en un valor máximo 12.5% para la intensidad de la radiación $I=25\text{mW}/\text{cm}^2$ y un tiempo de exposición de 30s (tabla 4.7).

De los resultados antes mencionados se puede observar que el láser en el espectro rojo lejano y los láseres infrarrojos permiten producir los efectos de activación y desactivación de mayor amplitud. Tomando en consideración lo anterior se observa que los trabajos que reportan el uso de láseres de diodos rojos ($\lambda=670\text{nm}$) para activar el crecimiento de las semillas de trigo (Szajsner, 2003; Qiu et al., 2007) no optimizan la respuesta de estimulación sobre el trigo.

5.2 CONCLUSIONES

Los láseres de diodos con longitudes de onda de 660, 850, 980 y 904 nm permitieron activar y desactivar el crecimiento del coleoptilo, del sistema radicular y la germinación de las semillas de trigo variedad Náhuatl (*Triticum aestivum* L).

El análisis estadístico implementado mostró que no todos los tratamientos láser producen cambios en las variables antes mencionadas. Cuando es posible detectar un cambio en el crecimiento de las semillas de trigo esta respuesta está determinada por la longitud de onda, la intensidad y el tiempo de exposición de la radiación láser.

Los láseres de diodos de onda continua fueron los únicos que modificaron el crecimiento del coleoptilo. El efecto de activación de mayor amplitud obtenido fue de 20.6% con respecto al nivel de control para una longitud de onda $\lambda=850\text{nm}$, una intensidad $I=12.5\text{mW/cm}^2$ y un tiempo de exposición de 120s. El máximo efecto de desactivación obtenido en el crecimiento del coleoptilo fue de 11.97% y lo produjo el láser infrarrojo con longitud de onda $\lambda=980\text{nm}$, intensidad de la radiación de $I=15\text{mW/cm}^2$ y tiempo de exposición de 120s.

Los efectos de mayor amplitud, tanto de activación como de desactivación en el crecimiento del sistema radicular, se obtuvieron con los láseres infrarrojos. La activación máxima, con valor de 23.7%, se produjo para el láser infrarrojo pulsado con longitud de onda $\lambda=904\text{nm}$, intensidad $I=3.6\text{mW/cm}^2$ y tiempo de exposición de 30s mientras que la desactivación máxima, con valor del 11.96%, se obtuvo para el láser infrarrojo con longitud de onda $\lambda=980\text{nm}$, intensidad $I=15\text{mW/cm}^2$ y tiempo de exposición de 120s.

La germinación de las semillas de trigo no se vio afectada fuertemente por la radiación de los láseres de diodos debido a que en la parte experimental se utilizaron semillas de buena calidad, esto es, con porcentajes altos de germinación.

El único láser que modificó la germinación de las semillas de trigo fue el láser rojo en el espectro lejano con longitud de onda $\lambda=850\text{nm}$. Este láser disminuyó el porcentaje de germinación de las semillas de trigo en 12.5% para una intensidad de la radiación láser de $I=25\text{mW/cm}^2$ y un tiempo de exposición de 30s.

APÉNDICE DE ESTADÍSTICA

A.1 CONCEPTOS BASICOS

La estadística es una herramienta matemática importante en el análisis de la información. Esta herramienta matemática nos enseña la forma de trabajar con la información, esto incluye su obtención, análisis e interpretación. La información que trabaja la estadística recibe el nombre de datos, y estos están disponibles en forma de números. La estadística está dividida en dos grupos: la estadística descriptiva, la cual nos enseña a organizar y resumir datos, y la estadística inferencial la cual nos enseña a tomar decisiones respecto a una gran cantidad de datos al examinar sólo una pequeña parte de ellos.

Al igual que otras ciencias la estadística maneja su propio lenguaje, por lo que a continuación se definirán algunos términos.

- *Datos*: Los datos son la materia prima de la estadística. En estadística los datos se definen como números. Existen dos tipos de números: uno de ellos se obtiene de la toma de mediciones mientras que el otro se obtiene a través de un proceso de conteo. Normalmente los datos que provienen de un proceso de conteo se asocian a variables cualitativas.
- *Estadística*: La estadística es la disciplina que se encarga de: 1) la recolección, organización, resumen y análisis de datos, así como 2) de la obtención de inferencias a partir de un volumen de datos cuando solo se examina una parte de ellos.
- *Bioestadística*: Es la aplicación de la estadística al análisis del comportamiento de los sistemas biológicos.
- *Variable*: Una característica o propiedad se toma como variable si se encuentra que esta toma diferentes valores en diversas personas, lugares o cosas. Esto nos indica que la característica no es la misma cuando se observa en diferentes sujetos.

- *Variable cuantitativa*: Una variable cuantitativa es aquella que puede medirse en la forma usual, esto es, a través de números. Este tipo de variable conlleva información respecto a cantidad.
- *Variable cualitativa*: Algunas características no pueden ser medidas, por lo que solo es posible clasificarlas. La medición en este caso consiste en la clasificación. Las mediciones hechas sobre este tipo de variables contienen información respecto a los atributos. Los conteos o las frecuencias son los números que se manejan en el análisis que involucran variables cualitativas.
- *Variable aleatoria*: Una vez definida la variable esta puede adquirir diferentes valores para una determinada característica. Cuando los valores se originan como resultado de factores aleatorios (al azar), que no pueden predecirse con exactitud y anticipación, la variable se llama variable aleatoria.
- *Variable aleatoria discreta*: Una variable aleatoria discreta se caracteriza por separaciones o interrupciones en la escala de valores que puede tomar. Estas separaciones o interrupciones indican la ausencia de valores entre los valores específicos que puede asumir la variable.
- *Variable aleatoria continua*: Una variable aleatoria continua no posee las separaciones o interrupciones típicas que posee una variable aleatoria discreta. Una variable aleatoria continua puede tomar cualquier valor dentro de un intervalo específico de valores asumidos por la variable.
- *Población*: Una población se define como una colección de entidades. Una población de entidades se define como una colección más grande de entidades de interés en un momento particular. De forma más general una población de valores se puede definir como la mayor colección de valores para una variable aleatoria, los cuales son de interés en un momento particular.
- *Muestra*: una muestra puede definirse como una parte de una población.

- *Medición*: Es la asignación de números a objetos o eventos de acuerdo con un conjunto de reglas. Las diversas escalas de medición son consecuencia de que la medición puede llevarse a cabo según diferentes conjuntos de reglas.
- *Escala nominal*: Es la escala de medición más baja, y consisten en designar o nombrar las observaciones o clasificarlas en varias categorías mutuamente excluyentes.
- *Escala ordinal*: Cuando las observaciones son sólo son diferentes de categoría a categoría, sino que además pueden clasificarse por grados de acuerdo con algún criterio, se dice que se miden sobre una escala ordinal. En este tipo de escala es imposible inferir que la diferencia entre los miembros de una de las categorías y la categoría inmediata adyacente sea igual a la diferencia entre los miembros de esa categoría y los miembros de la categoría adyacente a ella.
- *Escala de intervalos*: este tipo de escala es más especializada que la nominal y la ordinal. En esta escala es posible ordenar las mediciones y es posible conocer la distancia entre dos mediciones cualesquiera. La capacidad para poder hacer esto es el uso de una distancia unitaria y un punto cero, los cuales son arbitrarios. El punto cero seleccionado no es necesariamente un cero verdadero. Esta escala es una escala realmente cuantitativa.
- *Escala de razones*: En este tipo de escala pueden determinarse tanto la igualdad de las razones como la de los intervalos. Para esta escala es fundamental un punto cero verdadero.
- *Muestreo aleatorio simple*: Si se extrae una muestra de tamaño n de una población de tamaño N , de manera que cada muestra posible de tamaño n tenga la misma probabilidad de ser seleccionada, la muestra se llama muestra aleatoria simple.

A.2 ARREGLO ORDENADO

Un arreglo ordenado es una lista de valores de una población o de una muestra los cuales presentan un orden de magnitud desde el valor menor al valor mayor. El objetivo de tener un arreglo ordenado es el de poder identificar de forma rápida el valor de magnitud menor y el valor de magnitud mayor. De igual forma nos permite observar en que parte hay una mayor concentración de valores.

Tabla A.1. Datos crudos y arreglo ordenado para uno de los grupos de crecimiento del coleoptilo.

Datos sin ordenar	Arreglo Ordenado
Crecimiento del coleoptilo [mm]	Crecimiento del coleoptilo [mm]
172	63
152	81
139	100
168	100
136	117
142	120
120	124
81	124
162	127
117	136
174	139
144	139
124	141
139	142
163	144
100	146
141	152
146	162
124	163
100	168
127	172
63	174

A.3 DATOS AGRUPADOS Y DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS

El arreglo ordenado nos permite comprender mejor los datos registrados, pero es más útil hacer un resumen de los datos obtenidos.

Para poder agrupar las observaciones obtenidas hay que seleccionar un conjunto de intervalos contiguos que no se traslapen, en donde cada valor pueda ser colocado en uno y solo uno de los intervalos. Estos intervalos se conocen como *intervalos de clase*.

Para determinar el número de intervalos necesarios, existe una regla empírica que establece que deben de ser entre 6 y 15 intervalos. Si se tienen menos de 6 intervalos se corre el riesgo de haber resumido en exceso los datos. Si se tienen más de 15 intervalos, los datos no fueron resumidos adecuadamente.

Existe otra guía para determinar el número de intervalos necesarios que es a través de la fórmula de Sturges:

$$k = 1 + 3.322 \log_{10} n$$

Dónde: k = número de intervalos de clase.

n = número de valores en el conjunto de datos en observación.

Una vez determinado el número de intervalos de clase, el siguiente paso consiste en determinar la amplitud de dichos intervalos. Los intervalos de clase deben de tener la misma amplitud aunque existen ocasiones que esto es imposible. La amplitud se determina de la siguiente forma:

$$w = \frac{R}{k}$$

Dónde: w = amplitud de los intervalos de clase.

R = diferencia entre la observación más grande y la más pequeña dentro del conjunto de datos en observación.

k = número de intervalos de clase.

Como regla empírica para la amplitud de los intervalos de clase se recomienda que estos tengan una amplitud de 5 o 10 unidades. También se recomiendan amplitudes múltiplos de 10 para hacer más comprensible el resumen de los datos.

Ya determinado el número de intervalos y la amplitud de los mismos, los intervalos de clase se almacenarán de menor a mayor, en donde el intervalo de clase menor podrá tener como límite inferior el valor de la observación menor del conjunto de datos u otro menor que facilite la observación del resumen. De igual forma con el intervalo de clase mayor, su límite superior podrá ser igual al valor de la observación mayor del conjunto de datos o podrá tener un valor mayor que facilite la observación del resumen.

Ya definidos los intervalos de clase (número y amplitud) es útil referirse al centro del intervalo de clase llamado *punto medio*. La forma de calcular el punto medio es sumando los límites extremos del intervalo de clase y dividiendo entre 2.

A continuación es necesario determinar el número de valores que caen dentro de cada intervalo de clase. Posteriormente se elabora una tabla que muestre los resultados de este proceso. La tabla elaborada recibe el nombre de *distribución de frecuencias*.

Es posible que en vez de determinar el número de valores que caen dentro de cada intervalo de clase se determine la proporción. La forma de calcular esto es dividiendo el número de valores en un intervalo de clase particular entre el número total de valores. A esta proporción se le conoce como *frecuencia relativa* en ese intervalo.

También se puede determinar la frecuencia de valores dentro de dos o más intervalos de clase. Esto se obtiene sumando los números de los valores que caen dentro de los intervalos de clase de interés. A esto se le llama *acumular*.

Una vez obtenidas las distribuciones de frecuencias es posible visualizarlas gráficamente en forma de *histogramas*. En esta gráfica los valores de la variable se ponen sobre el eje horizontal y sobre el eje vertical se colocan los valores de las frecuencias. Sobre cada intervalo de clase se levanta una barra rectangular hasta que se intercepte con la

frecuencia respectiva. Las barras del histograma deben de ser adyacentes, por lo que los límites de los intervalos de clase deben de ser correctos para evitar la separación de barras en la gráfica.

El eje horizontal presenta una escala continua por lo que se sugiere un orden de *redondeo* en el momento de realizar las mediciones. Esto se dependerá de las preferencias personales o de las limitaciones de los instrumentos de medición. Los límites de los intervalos de clase deben de reflejar el grado de precisión de los datos originales.

Al espacio entre los límites del histograma se le llama *área del histograma*. A cada observación se le asigna una unidad de esta área de acuerdo con la frecuencia.

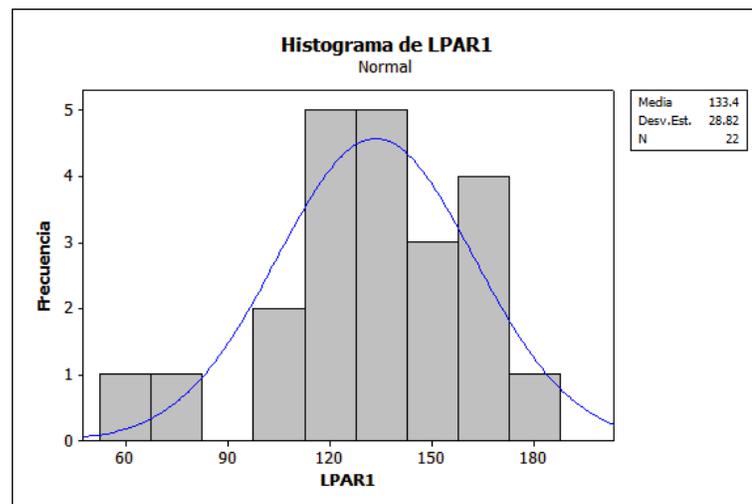


Figura A.1. Histograma obtenido para un grupo del crecimiento del coleoptilo.

A.4 ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA: MEDIDAS DE TENDENCIA CENTRAL

En estadística existen otros tipos de resumen de datos. Estos resúmenes de datos consisten en condensar datos por medio de un solo número llamado *medida descriptiva*. Las medidas descriptivas pueden calcularse a partir de los datos de una muestra o de una población.

Una medida descriptiva calculada a partir de los datos de una muestra se llama *estadística*.

Una medida descriptiva calculada a partir de los datos de una población se llama *parámetro*.

En las medidas de tendencia central únicamente un valor del conjunto de datos se considera como representativo del todo. Las medidas de tendencia central conllevan información respecto al valor promedio de un conjunto de valores.

Las tres medidas de tendencia central de uso más frecuente son: la meda, la moda y la mediana.

A.4.1 La media aritmética

Es la medida de tendencia central más conocida. El adjetivo *aritmética* sirve para distinguirla de otras medias que se pueden calcular. La media se obtiene sumando todos los valores en una población o muestra y dividiendo esta suma entre el número de valores sumados.

$$\mu = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Dónde: n = corresponde al tamaño de la muestra

x_i = corresponde a los valores particulares que toma la variable aleatoria.

Las propiedades de la media son las siguientes:

1. Es única para un conjunto de datos, existiendo una y solo una media aritmética.
2. Simplicidad. El cálculo y comprensión de la media aritmética son sencillos.
3. Puesto que todos y cada uno de los valores en el conjunto de datos entran en el cálculo de la media, esta es afectada por cada valor. Por lo tanto, los valores extremos influyen sobre la media, y en algunos casos pueden distorsionarla tanto que llega a ser indeseable como medida de tendencia central.

A.4.2 La mediana

La mediana de un conjunto finito de valores es aquel valor que divide al conjunto de valores en dos partes iguales. Si el número de valores es impar, la mediana es el valor medio o central siempre y cuando todas las variables sean arregladas en orden de magnitud. Cuando el número de valores en el conjunto es par, no existe un valor medio único, sino que existen dos valores medios. En tal caso, la mediana corresponde a la media de esos dos valores centrales cuando todos los valores son arreglados en orden de magnitud.

$$mediana = \frac{n + 1}{2} \text{ esima observación}$$

Dónde: n = corresponde al tamaño de la muestra

Las propiedades de la mediana son las siguientes:

1. Es única. Al igual que para la media, existe solamente una mediana para un conjunto de datos.
2. Simplicidad, es muy sencillo calcularla.
3. Los valores extremos no tienen efectos importantes sobre la mediana.

A.4.3 La moda

La moda de un conjunto de valores es aquel valor que ocurre con mayor frecuencia. Si todos los valores son diferentes no hay moda. Por otra parte, un conjunto de valores puede tener más de una moda.

A.5 ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA: MEDIDAS DE DISPERSIÓN

La dispersión de un conjunto de observaciones se refiere a la variedad que muestran éstas. Una medida de dispersión conlleva información respecto a la cantidad total de variabilidad presente en el conjunto de datos. Si todos los valores son iguales, entonces no existe dispersión. Si no todos los valores son iguales entonces existe dispersión en los datos. La magnitud de la dispersión es pequeña cuando los valores, aunque diferentes, son

cercanos entre sí. Si los valores están ampliamente esparcidos, la dispersión es mayor. Otros términos sinónimos de dispersión son: *variación* y *expansión*.

A.5.1 El rango o intervalo de variación

Una forma de medir la variación en un conjunto de valores es calculando el rango. Este se define como la diferencia entre el valor más pequeño y el valor más grande en un conjunto de observaciones.

$$R = x_L - x_S$$

Dónde: R = corresponde al rango.

x_L = corresponde al valor mayor.

x_S = corresponde al valor menor.

A.5.2 La variancia

Cuando los valores de un conjunto de observaciones se encuentran ubicados cerca de su media, la dispersión es menor que cuando están esparcidos. La variancia nos permite medir la dispersión en función del esparcimiento de los valores alrededor de su media. Para calcular la variancia, para una muestra de valores, se resta la media a cada uno de los valores individuales, las diferencias obtenidas se elevan al cuadrado y después se suman entre sí. Este último resultado se divide entre el tamaño de la muestra menos uno para obtener de esta forma la variancia de la muestra.

$$\sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

Dónde: x_i = corresponde a los valores particulares que toma la variable aleatoria.

\bar{x} = corresponde a la media de la serie de datos.

n = corresponde al número de muestra.

σ^2 = corresponde a la variancia.

Las unidades que tendrá la variancia son unidades al cuadrado.

A.5.3 La desviación estándar

La variancia no es como tal una medida directa de dispersión ya que su resultado entrega un valor con las unidades al cuadrado. El objetivo de la desviación estándar es expresar la dispersión con las unidades originales. Para obtener la medida de dispersión en unidades originales, simplemente se obtiene la raíz cuadrada de la variancia.

$$\sigma = \sqrt{\sigma^2} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

A.6 LA DISTRIBUCIÓN NORMAL

La distribución normal es una de las distribuciones más importantes en la estadística. Muchos problemas tienen este tipo de distribución en su análisis de datos.

La densidad normal está dada por:

$$f(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} e^{-(x-\mu)^2 / 2\sigma^2} \quad -\infty < x < \infty$$

Dónde: $\pi = 3.14159\dots$

$e = 2.71828\dots$

μ = corresponde a la media.

σ = corresponde a la desviación estándar.

La distribución normal presenta las siguientes características:

Es simétrica respecto a su media (μ). La curva hacia cualquiera de los lados de μ es una imagen de la del otro lado.

La media, la mediana y la moda son todas iguales.

El área bajo la curva sobre el eje de las x es la unidad, esto es, su valor es uno.

Si se levantan perpendiculares a una distancia de una desviación estándar de la media hacia ambos lados, el área delimitada por esas perpendiculares será de 68% del área total. Si los límites laterales se extienden a dos desviaciones estándar en ambos lados de la media, estará incluido aproximadamente el 95% del área. Extendiendo los límites laterales una distancia de tres desviaciones estándar se incluirá aproximadamente el 99.7% del área total.

Los parámetros μ y σ determinan completamente la distribución normal. Por cada valor diferente de μ y σ se especifica una distribución normal distinta. Los valores diferentes de μ desplazan la gráfica de la distribución a los largo del eje de las x . Los valores de σ determinan el grado de aplanamiento o levantamiento de la gráfica de la distribución.

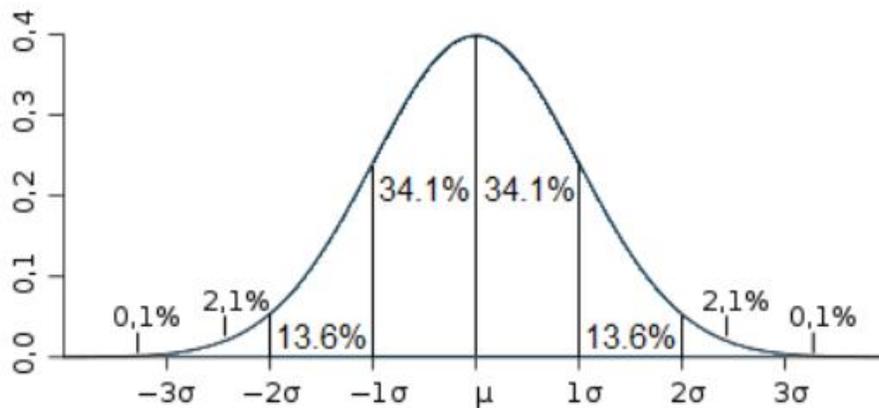
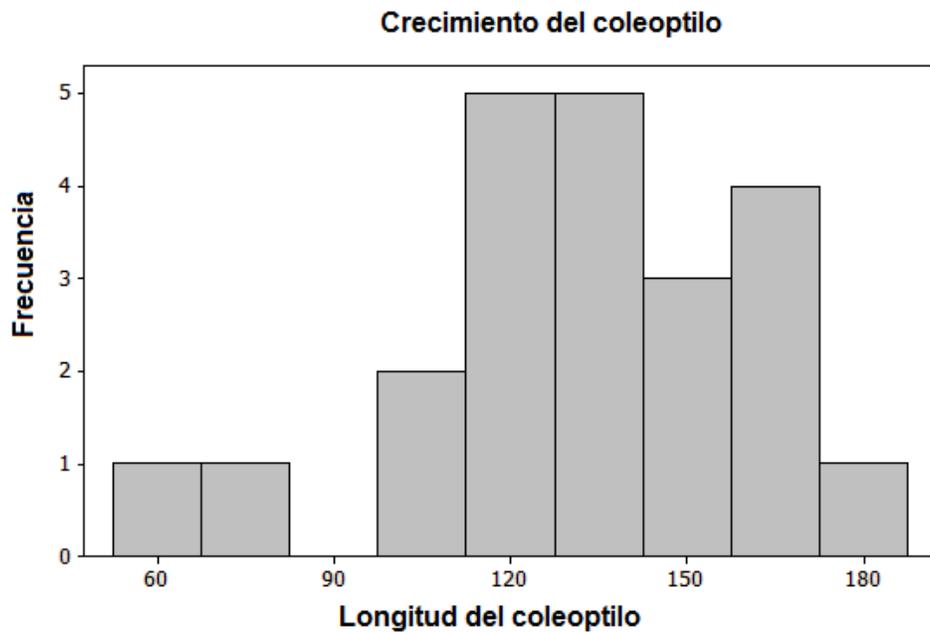


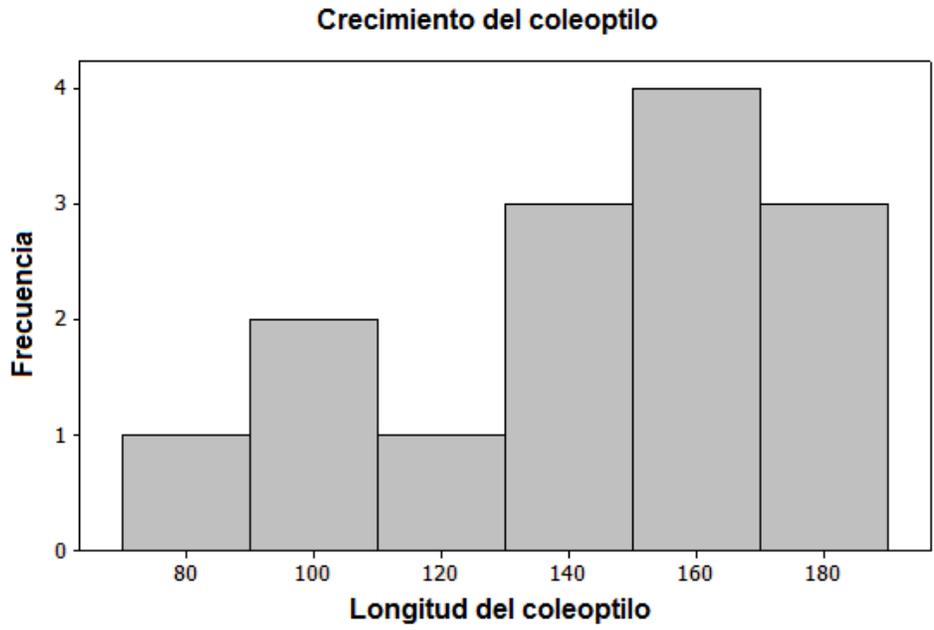
Figura A.2. Gráfica de la distribución normal

A.7 PROCESAMIENTO DE LOS DATOS OBTENIDOS

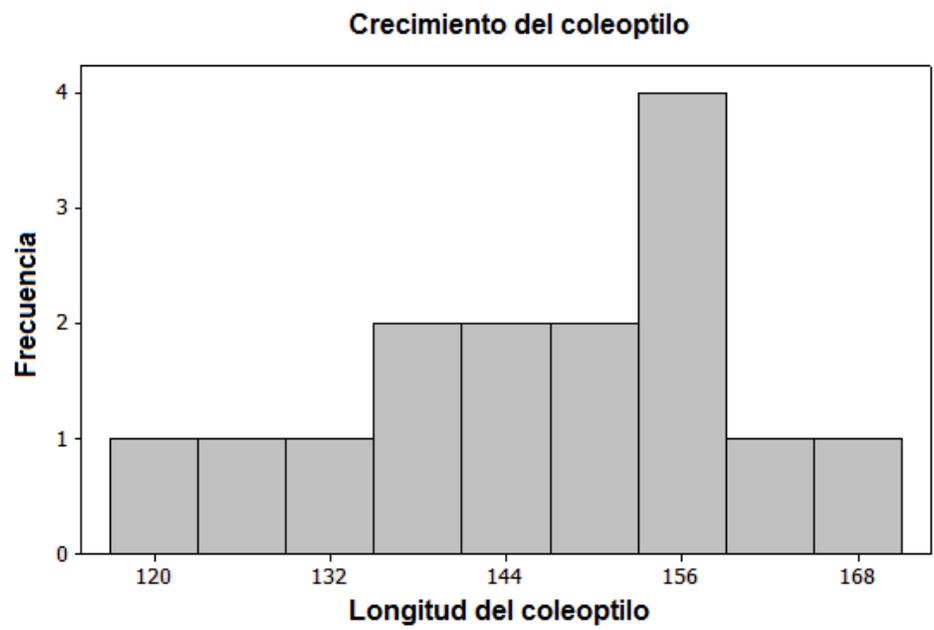
Para procesar los datos de la presente investigación primero se resumieron los datos obtenidos de crecimiento a través de los histogramas. El objetivo de esto fue el de determinar la posible distribución de los datos y visualizar su comportamiento. En la figura A.3 se muestran algunos ejemplos de los histogramas obtenidos a partir de los datos crudos.



a)



b)



c)

Figura A.3. Histogramas obtenidos para el crecimiento del coleoptilo en tres grupos de 25 semillas cada uno.

De la figura A.3 se puede observar que los datos tienden a concentrarse en el centro de los histogramas, pero esto no es una prueba cuantitativa de los valores.

Debido a que el histograma no da mucha información acerca del comportamiento de las semillas, a continuación se calculó la media, la mediana, la desviación estándar y la moda de cada grupo de 25 semillas. Con los valores antes mencionados se comparó la media con la mediana para saber si los datos de cada grupo podían describirse utilizando la distribución normal. Para describir un grupo con una distribución normal se requiere que la media, la mediana y la moda sean iguales. La media y la mediana presentaron valores muy próximos, pero no se encontraron valores de moda en los datos experimentales.

Otro problema que se presentó fue que los grupos no tenían el mismo tamaño. Esto se debe a que en cada grupo crece un número diferente de semillas lo que crea grupos no homogéneos. Las cuestiones fundamentales eran saber cómo estaban distribuidos los datos y como podían compararse los grupos no homogéneos para detectar la influencia de la radiación láser.

Para poder detectar los efectos de la radiación láser se abordaron cuestiones de la estadística inferencial, esto es, aspectos de estadística que permiten obtener conclusiones sobre las muestras. Las pruebas planteadas fueron, para la germinación la t de Student y para el crecimiento del coleoptilo y del sistema radicular el análisis de variancia (AVONA) y la prueba de Tukey. Para poder aplicar estas tres pruebas es necesario conocer el tipo de distribución de las muestras ya que dependiendo de la distribución es necesario aplicar un factor de corrección. Nuevamente se llegó al problema de determinar el tipo de distribución de las muestras.

Tomando como antecedente que la media y la mediana presentaron un valor muy próximo, se aplicó el criterio de Kolmogorov-Smirnov y después se verificó el resultado con el criterio Shapiro-Wilk para determinar si los valores obtenidos para cada grupo podían describirse con una distribución normal. A todos los grupos se les aplicaron estas pruebas. Los resultados obtenidos para todos los grupos fue que los datos podían presentarse a través de una distribución normal.

Una vez conocido que las muestras presentan una distribución normal se procedió a caracterizarlas a través de la media y la desviación estándar. El conocimiento de la

distribución permitió homogeneizar los grupos y seleccionar la prueba de la t de Student, la prueba de ANOVA y la prueba de Tukey correcta para este tipo de distribución.

Las pruebas de t de Student, la de ANOVA y la de Tukey entregan un coeficiente ρ llamado significancia estadística. Mientras más pequeño sea este valor, los efectos se diferencian más sobre el nivel de control. La significancia estadística presenta los siguientes valores:

$\rho < 0.05$: Los efectos obtenidos no se diferencian del crecimiento del control por lo que no se puede concluir nada de la muestra. Este valor se representa en las tablas y en las gráficas se representa con “**”.

$\rho < 0.01$: Los efectos obtenidos se diferencian del crecimiento del control aunque los efectos no presentan una amplitud máxima. Este valor se representa en las tablas y en las gráficas se representa con “***”.

$\rho < 0.001$: Los efectos obtenidos se diferencian del crecimiento del control y presentan una amplitud máxima. Este valor se representa en las tablas y en las gráficas con “****”.

PUBLICACIONES

- Mauricio Hernández, Alexandre Michtchenko, 2011. Efectos de activación e inhibición en el crecimiento del coleoptilo y del sistema radicular en semillas de trigo provocados por la radiación láser IR con longitud de onda de 980nm, Revista de Información tecnológica. En prensa.
- Alexandre Michtchenko, Mauricio Hernández Vizuet, 2010. Interacción de la luz láser de baja intensidad con los sistemas biológicos, RISCE Revista Internacional de Sistemas Computacionales y Electrónicos, 2:2.
- Hernández-Vizuet M., Michtchenko A., 2010. Infrared laser radiation ($L=980\text{nm}$) application for biostimulation of wheat seeds (*Triticum aestivum* L). Physics and Engineering of Microwaves, Millimeter and Submillimeter Waves (MSMW), 1-4.
- Michtchenko, A., Hernández-Vizuet, M., 2010. Interaction of low level laser radiation with biological systems. Physics and Engineering of Microwaves, Millimeter and Submillimeter Waves (MSMW), 1-3.
- Michtchenko, A., Hernández-Vizuet, M., 2010. Application of infrared-pulsed laser radiation with wavelength $L=904\text{nm}$ to stimulate the growth of wheat seeds. Physics and Engineering of Microwaves, Millimeter and Submillimeter Waves (MSMW), 1-3.
- M. Hernández, A. Michtchenko. 2009. Efectos de fotobioestimulación en semillas de trigo (*Triticum Aestivum* L) provocados por radiación láser roja de baja intensidad con $L=660\text{ nm}$. Revista Cubana de Física, 27(2B), 271-274.
- Michtchenko M. Hernández, 2009. Photobiostimulation effects on germination and early growth of wheat seeds (*Triticum aestivum* L) produced by a semiconductor laser with $L=980\text{nm}$. Revista Cubana de Física, 27(2B), 267-270.
- Hernandez, M., Michtchenko, A., Gallegos, F.J., 2008. Photobiostimulation effects caused by a high power IR laser with $\lambda=850\text{nm}$ in wheat (*Triticum aestivum* L). Electrical Engineering, Computing Science and Automatic Control. CCE 2008, 495-497.
- Michtchenko, A., Hernandez, V.M., 2007. Photobiostimulation Effects Caused by Low Level Ultra-High Frequency ($\nu=2.45\text{GHz}$) and Laser Radiation ($\lambda=650\text{ NM}$

and $\lambda=850$ NM) in the Growth Stimulus of Biological Systems. Physics and Engineering of Microwaves, Millimeter and Submillimeter Waves and Workshop on Terahertz Technologies, MSMW '07, 901-903.

- Michtchenko, A., Hernandez M., 2006. Photobiostimulation Effects Caused for Low Level Laser Radiation with $\lambda = 650$ nm in the Growth Stimulus of Biological Systems. Electrical and Electronics Engineering, 1-4.

REFERENCIAS

- Aladjadjian Anna, 2007. The use of physical methods for plant growing stimulation, *J. Cent. Eur. Agric.*, 8(3), 369-380.
- Chen Yi-Ping, Yue Ming, Wang Xun-Ling, 2005. Influence of He-Ne laser irradiation on seeds thermodynamic parameters and seedlings growth of *Isatis indigotica*, *Plant Science*, 168, 601-606.
- Chen Yi-Ping, Liu Yong-Jun, Wang Xun-Ling, Ren Zhao-Yu, Yue Ming, 2005. Effect of Microwave and He-Ne laser on enzyme activity and biophoton emission of *Isatis indigotica* Fort, *Acta Botanica Sinica*, 47(7), 849-855.
- Drozd D., 1994. Influence of pre-sowing laser radiation of grain elements of yield structure in spring wheat, *Zeszyty Naukowe AR Wroclaw*, 62:254, 63-69.
- Drozd D., 1994. The effect of laser radiation on spring wheat properties, *Int. Agrophysics*, 8, 209-211.
- Drozd D. y Szajsner H., 1999. Influence of presowing laser radiation on spring wheat characters, *Int. Agrophysics*, 79-85.
- Drozd D. y Szajsner H., 1998. Effect of laser radiation on spring wheat genotypes, *Int. Agrophysics*, 197-202.
- Freyden J., 2003. *Optical sensors for laser radiation*, Springer, 124-198.
- Horand R., 1998. *Statistical analysis for environmental sciences*, LNG Science, London.
- Landero H. R., González R. M., 2006. *Estadística con SPSS y metodología de la investigación*, Trillas.
- Johnson D., 2005. *Biostatistics*, Wiley, 4th edition.
- Karr M. A., Chen F. S., Shumate P. W., 1979. Output power stability of GaAlAs laser transmitter using an optical tap for feedback control, *Applied optics*, 18(8), 157-168.
- Kasap S. O., 2001. *Optoelectronics and Photonics*, Prentice-Hall.
- Karu T., 1998. *The science of low-power laser therapy*. Gordon and Breach Science Publisher.

- Karu T., 1987. Photobiological fundamentals of low-power laser therapy, IEEE, J. Quantum Electronics, 23(10), 1703-1717.
- Levskaya A., Weiner O. D., Lim W. A., Voigt C. A., 2009. Spatiotemporal control of cells signalling using a light-switchable protein interaction, Nature, 461(15), 997-1001.
- Mendelsohn Andrew R., 2002. An enlightened genetic switch, Nature Biotech., 20, 985-987.
- Ouf S. A., Abdel-Handy, 1999. Influence of He-Ne laser irradiation of soybean seeds on seed mycoflora, growth, nodulation and resistance to *Fusarium solani*, Folia Microbiology, 44, 388-390.
- Paleg L. G., Aspinall D., 1970. Field control of plant growth and development through the laser activation phytochrome, Nature, 228, 970-973.
- Plummer J. A., Bell D. T., 1997. Germination in photosensitive seeds: Does phytochromes stimulate metabolism, Plant Physiol., 24, 389-394.
- Podlesny J., Podleśna, A., 2004. Morphological changes and yield of selected species of leguminous plants under the influence of seed treatment with laser light, Int. Agrophys. 18:3, 253-260.
- Podlesny 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.
- Qiu Z. B., Zhu X. J., Li F. M., Liu X., Yue M., 2007. The optical effect of a semiconductor laser on protecting wheat from UV-B radiation damage, Photochem. Photobiol. Sci. 6, 788–793.
- Qiu Z. B., Liu X., Tian X. J., Yue M., 2007. Effects of CO₂ laser pretreatment on drought stress resistance in wheat. J, Photochem. Photobiol. B. 90:1 17-25.
- Rani Govil Sudha, Agrawal D. C., Rai K. P. y Thakur S. N., 1985. Gworth response og *Vigna radiate* seeds to laser irradiation in the UV-A region, Physiol. Plant., 63, 133-134.
- Salyaev R. K., Dudareva L. V., Lankevich S. V., Makarenko S. P., Sumtsova V. M., Rudikovskaya e. G., 2007. Effect of low-intenisty laser irradiation on the chemical composition and structure of lipids in wheat tissue culture. Doklady Biological Sciences, 412, 87–88.

- Salyaev R. K., Dudareva L. V., Lankevich S. V., Ekimova E. G., Sumtsova V. M., 2003. Effect of low-intensity laser radiation on the lipid peroxidation in wheat callus culture. *Russian Journal of Plant Physiology*, 50:4, 498-500.
- Salyaev R. K., Dudareva L. V., Lankevich S. V., Sumtsova V. M., 2001. The effect of low-intensity coherent radiation on morphogenetic processes in wheat callus culture, *Doklady Biological Sciences*, 376, 113–114 .
- Shimizu-Sato S., Huq E., Tepperman J. M., Quail H. P., 2002. A light-switchable gene promoter system, *Nature*, 20, 1041- 1044.
- Smith H., 2000. Phytochromes and light signal perception by plants - an emerging synthesis, *Nature*, 407, 585-591.
- Stockton T., Casper P. W., 1982. Injection laser diode transmitter design. *Fiber Optic Tech.*, 93-96.
- Svacek J. F., 1980. Transmitter feedback techniques stabilize laser-diode output, *EDN*, 107-110.
- Szajsner Hanna, 2003. Comparison of the spring and winter wheat forms reactions to the pre-sowing laser biostimulation, *Acta Agrophysica*: 2:3, 639-643.
- Sze S.M., 2001. *Semiconductor devices*, John Wiley Sons, Inc.
- Vasilevski G., 2003. Perspectives of the application of biophysical methods in sustainable agriculture, *Bulg. J. Plant Physiol.*, 29(3), 179-186.
- Villaseñor Mir H. E., Espitia Rangel E., Huerta Espino J., Solís Moya E., González Iñiguez R. M., Osorio Alcalá L. y Pérez Herrera P., 2007. Triunfo F2004, new bread wheat cultivar for rainfed conditions in Mexico, *Agricultura Técnica en México*, 33(3), 319-322.
- Wilczek M., Koper R., Ćwintal M., Kornilłowicz-Kowalska T., 2005. Germination capacity and the health status of alfalfa seeds after laser treatment, *Int. Agrophys*, 19(1), 85-89.
- Wilczek M., Koper R., Ćwintal M., Kornilłowicz-Kowalska T., 2004. Germination capacity and the health status of red clover seeds following laser treatment, *Int. Agrophys*, 18(3), 289-293.

- Zong-Bo Qiu, Xiao Liu, Xiang-Jun Tian y Ming Yue, 2008. Effects of CO2 laser pretreatment on drought stress resistance in wheat, *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 17-25.

ANEXO

Efectos de activación e inhibición en el crecimiento del coleoptilo y del sistema radicular en semillas de trigo provocados por la radiación láser IR con longitud de onda de 980nm.

Mauricio Hernández⁽¹⁾, **Alexandre Michtchenko**⁽²⁾

(1) Sección de Estudios de Posgrado e Investigación (SEPI-ESIME-Zacatenco). Unidad Profesional Adolfo López Mateos, Zacatenco, Del. Gustavo A. Madero, C.P. 07738, México D.F. (e-mail: mahernandezvi@ipn.mx).

(2) Sección de Estudios de Posgrado e Investigación (SEPI-ESIME-Zacatenco). Unidad Profesional Adolfo López Mateos, Zacatenco, Del. Gustavo A. Madero, C.P. 07738, México D.F. (e-mail: amichtchenko@ipn.mx).

Resumen

En el presente trabajo se investigaron los efectos de la radiación láser infrarroja sobre el crecimiento del coleoptilo y del sistema radicular en semillas de trigo de la variedad Nahuatl (*Triticum aestivum* L). El láser utilizado fue un láser de diodo con longitud de onda $\lambda=980\text{nm}$. Para el tratamiento de las semillas de trigo se definieron quince tratamientos láser con diferentes densidades de potencia y tiempos de exposición. Cada tratamiento láser se aplicó una vez antes de la siembra. Los experimentos fueron elaborados bajo condiciones de laboratorio. El análisis estadístico mostró activaciones e inhibiciones importantes en el crecimiento del coleoptilo y del sistema radicular. Basados en los resultados obtenidos se concluye que pese a que el coleoptilo sufrió modificaciones en su crecimiento, el sistema radicular fue el más susceptible a la radiación láser mostrando una activación máxima de 15.2% y una inhibición máxima de 17% ambos con respecto al control.

Palabras clave: laser de diodo, radiación láser infrarroja, trigo, coleoptilo, sistema radicular.

Effects of activation and inhibition in the growth of coleoptile and root system of wheat seeds caused by IR laser radiation with a wavelength of 980nm.

Abstract

In this study the effects of infrared laser radiation on the growth of coleoptile and root system in wheat seeds Nahuatl variety (*Triticum aestivum* L) were investigated. The laser used was a laser diode with wavelength $\lambda = 980\text{nm}$. For the treatment of wheat seeds fifteen laser treatments were defined with different power densities and exposure times. Each laser treatment was applied once before sowing. The experiments were carried on under laboratory conditions. The statistical analysis showed important activations and inhibitions in the growth of coleoptile and root system. Based on the results it is concluded that although the growth of the coleoptile was modified, the root system was more susceptible to laser radiation showing a maximum activation of 15.2% and a maximum inhibition of 17%, both with respect to control.

Keywords: laser diode, infrared laser radiation, wheat, coleoptile, root system.

INTRODUCCIÓN

El trigo es el segundo grano más producido a nivel mundial con una producción, reportada por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), de 682 millones de toneladas métricas (Mt). En México desde el año de 1985 se ha observado una disminución paulatina en la producción de este grano (Villaseñor et al., 2007). Entre el año de 1996 y el año 2004 la importación de trigo pasó de 750 mil Mt a 3 millones de Mt de las 6 millones de Mt necesarias para satisfacer el consumo interno. En la actualidad la importación de trigo representa el 74.3% del total necesario para satisfacer la demanda interna.

En México existen dos ciclos de cultivo del trigo (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, México, SAGARPA). El ciclo Otoño-Invierno, en el cual se produce el 90% de la producción interna, y el ciclo Primavera-Verano, en el cual se produce el 10% restante de la producción interna. El ciclo de cultivo Primavera-Verano se ha considerado un ciclo de oportunidad para incrementar la producción anual de este grano en el país. Durante este ciclo de cultivo las semillas se siembran en un clima templado húmedo con alturas de entre los 2000 y 2800 metros sobre el nivel del mar, Tomando en consideración lo anterior es necesario buscar métodos que permitan mejorar el desarrollo de las semillas bajo estas condiciones para poder incrementar la producción en este ciclo de cultivo.

Una alternativa a los métodos químicos para el tratamiento de las semillas es el uso de métodos físicos, los cuales presentan la ventaja de no ser invasivos y tóxicos para las semillas (Aladjadjian, 2007; Vasilevski, 2003). El láser, desde su descubrimiento en 1960, ha sido considerado por los investigadores como un posible método físico de tratamiento de las semillas que permite mejorar el rendimiento, desarrollo y crecimiento de las plantas (Aladjadjian, 2007; Vasilevski, 2003; Dinoev et al., 2004; Podlešny et al., 2004, 2002; Rybiński et al., 2004; Salyaev et al., 2007, 2001). Los efectos reportados por los investigadores en diversas semillas de vegetales y cereales son la activación del desarrollo en etapas tempranas, aceleración e incremento de la germinación, modificación en la acumulación de la materia seca, incremento de la altura, peso y rendimiento de las plantas entre otros. Los parámetros de la luz láser que determinan la estimulación de las semillas son la longitud de onda, la densidad de potencia y el tiempo de exposición a la radiación (Aladjadjian, 2007; Dinoev et al., 2004). Otro parámetro que es de importancia pero que no corresponde a la radiación láser es la especie y variedad de las semillas.

Para la estimulación de semillas de trigo los láseres que más se han utilizado con este fin son los láseres de He-Ne (con longitud de onda de 632.8nm), los láseres de diodos (con longitud de onda de 670nm) y los láseres de CO₂ (con longitud de onda de 10600 nm) (Drozd et al., 1998, 1999; Salyaev et al., 2007, 2001; Szajnsner, 2003; Zong-Bo et al., 2008). Los dos primeros emiten luz en el espectro rojo (espectro visible) mientras que el tercero emite luz en el espectro infrarrojo (IR) lejano. Los efectos obtenidos en las semillas de trigo debido a su tratamiento con los láseres de He-Ne y los diodos láser han sido un mejoramiento en el crecimiento de las plántulas, un incremento en la germinación, en la longitud del tallo y de las raíces, así como en la densidad y en la longitud de las orejas de trigo. La radiación láser roja también ha permitido proteger las semillas contra el daño que produce la radiación UV-B. La radiación láser IR ha sido utilizada para mejorar la resistencia a la sequía de las semillas de trigo así como para mejorar algunos de sus parámetros de crecimiento. Los fotones producidos por los láseres IR tienen la característica de que penetran más en los tejidos pese a que su energía es menor que la producida por los láseres rojos.

Debido a la escasa información experimental acerca de los efectos de estimulación en semillas de trigo provocados por la radiación láser en el espectro IR cercano, el presente trabajo tiene como objetivo principal el investigar si este tipo de radiación, producida por un láser de diodo con longitud de onda de 980nm, estimula el crecimiento del trigo variedad Náhuatl (*Triticum aestivum* L) en sus etapas iniciales de desarrollo de forma tal que se aporte evidencia en favor del uso de este método físico como alternativa a los métodos químicos utilizados actualmente para incrementar la producción en el país en este ciclo de siembra.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de la variedad de Trigo

La variedad de trigo (*Triticum aestivum* L) seleccionada fue la Náhuatl F2000. Esta semilla fue proporcionada por el Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP, México) del país. Su desarrollo estuvo a cargo del instituto antes mencionado y del Centro Internacional de Mejora de Maíz y Trigo (CIMMYT, México). Esta variedad de trigo es utilizada en el ciclo de cultivo Primavera-Verano y es de importancia por su capacidad de desarrollo en los distintos estados de la república.

Tratamiento con el láser IR

La potencia de salida del láser de diodo con $\lambda=980\text{nm}$ fue medida con un radiómetro piroeléctrico calibrado eléctricamente modelo Rs5900 conectado a una punta piroeléctrica de potencia modelo RjP735 de la compañía Laser Probe, USA. El patrón de radiación del láser fue medido con un sistema de fotodiodo diseñado en el laboratorio. Debido a que la radiación del láser de diodo no es uniforme, sólo el área central con disminuciones de potencia del 10% con respecto a la potencia máxima fue considerada para el tratamiento de las semillas.

Los parámetros del láser de diodo considerados para definir los tratamientos láser a aplicarse a las semillas de trigo fueron la densidad de potencia [mW/cm^2] y el tiempo de exposición a la radiación láser [s]. Cada tratamiento (T) se aplicó a un grupo diferente de semillas de trigo. Los tratamientos láser definidos fueron los siguientes: i) Exposición a una densidad de potencia de $15\text{ mW}/\text{cm}^2$ con 5 tiempos diferentes: 15s (T1), 30s (T2), 60s (T3), 120s (T4), 240s (T5); ii) Exposición a una densidad de potencia de $30\text{ mW}/\text{cm}^2$ con 5 tiempos diferentes: 15s (T6), 30s (T7), 60s (T8), 120s (T9), 240s (T10); y iii) Exposición a una densidad de potencia de $60\text{ mW}/\text{cm}^2$ con 5 tiempos diferentes: 15s (T11), 30s (T12), 60s (T13), 120s (T14), 240s (T15).

Pruebas de crecimiento

Los parámetros del crecimiento a evaluar en el trigo fueron la longitud del coleoptilo y la longitud del sistema radicular. Las pruebas de crecimiento fueron desarrolladas bajo condiciones de laboratorio de acuerdo con los lineamientos establecidos por la Asociación Internacional de Pruebas de Semillas (ISTA 2009 y 2010). Para cada tratamiento láser se consideraron 16 repeticiones ($n=16$), con 25 semillas cada una, dando un total de 400 semillas a tratar. Cada densidad de potencia presentó un control con la misma cantidad de semillas. Después de haber tratado las semillas con la radiación láser, estas fueron colocadas sobre papel filtro y enrolladas. Posteriormente el papel filtro, con las semillas, fue humedecido con la misma cantidad de agua destilada. Para las semillas de control se aplicó el mismo procedimiento. Los papeles filtro con las semillas tratadas y los controles fueron marcados e introducidos de forma aleatoria en una cámara de germinación por 10 días. La temperatura y humedad para las pruebas de crecimiento dentro de la cámara fueron de $20\pm 2^\circ\text{C}$ y de $70\pm 2\%$ respectivamente.

Análisis estadístico

Después del décimo día se procedió a medir la longitud del coleoptilo y del sistema radicular. Una vez registrados los valores de crecimiento de ambas variables se procedió a analizar la normalidad de los datos a través de la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Posteriormente los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) para detectar diferencias entre los parámetros de las medias. Estas a su vez fueron comparadas utilizando la prueba de Tukey (múltiples comparaciones) para detectar diferencias entre el control y las semillas tratadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aladjadjyan (2007) y Vasilevski (2003) mencionan que la radiación láser permite a las semillas vegetar con un nivel mayor de energía, lo que trae como consecuencia la estimulación del

crecimiento en las etapas iniciales de su desarrollo. En la presente investigación se observó que para una longitud de onda constante ($\lambda=980\text{nm}$), los cambios en la densidad de potencia y el tiempo de exposición permiten no solo incrementar el crecimiento de las semillas de trigo sino también inhibirlo. Tanto la longitud del coleoptilo como la del sistema radicular mostraron incrementos y decrementos importantes en su desarrollo en función de la densidad de potencia y del tiempo de exposición utilizado.

Crecimiento del coleoptilo

De todos los tratamientos aplicados solo 3 de ellos produjeron cambios estadísticamente significativos (p) en el crecimiento del coleoptilo: dos de los tratamientos láser, T3 y T4 con $p < 0.001$, produjeron una reducción importante en la longitud del coleoptilo, 11% y 12% respectivamente (Fig. 1); el tercer tratamiento, T13 con $p < 0.01$, incrementó la longitud del coleoptilo 6.5% (Fig. 2). Los tratamientos T3 y T4 presentaron una densidad de potencia de $15\text{mW}/\text{cm}^2$ y tiempos de exposición de 60s y 120s respectivamente, mientras que el tratamiento T13 presentó una densidad de potencia de $60\text{mW}/\text{cm}^2$ y un tiempo de exposición de 60s.

En función de la significancia estadística y de los porcentajes de crecimiento obtenidos es posible concluir que este tipo de radiación láser produce efectos de inhibición de mayor amplitud en comparación con los efectos de activación para el crecimiento del coleoptilo.

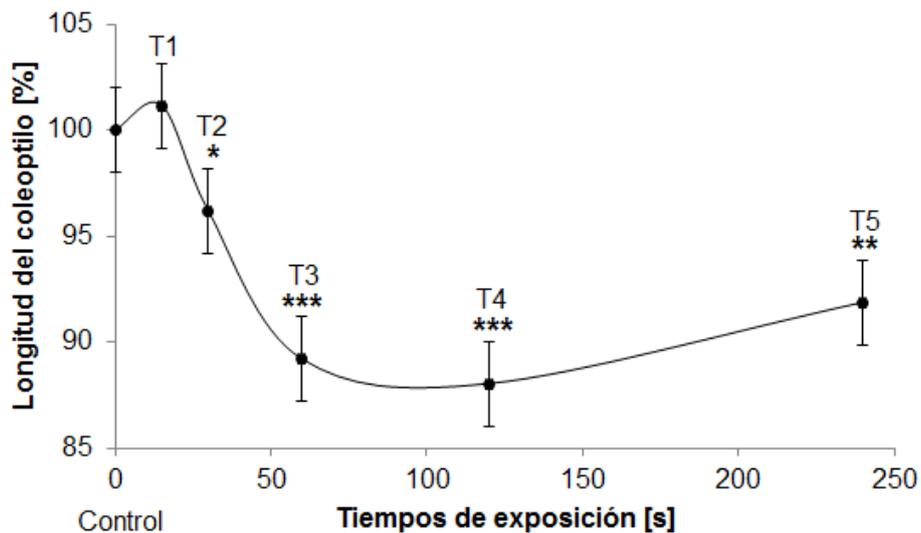


Fig. 1: Crecimiento del coleoptilo para una densidad de potencia de $15\text{mW}/\text{cm}^2$.

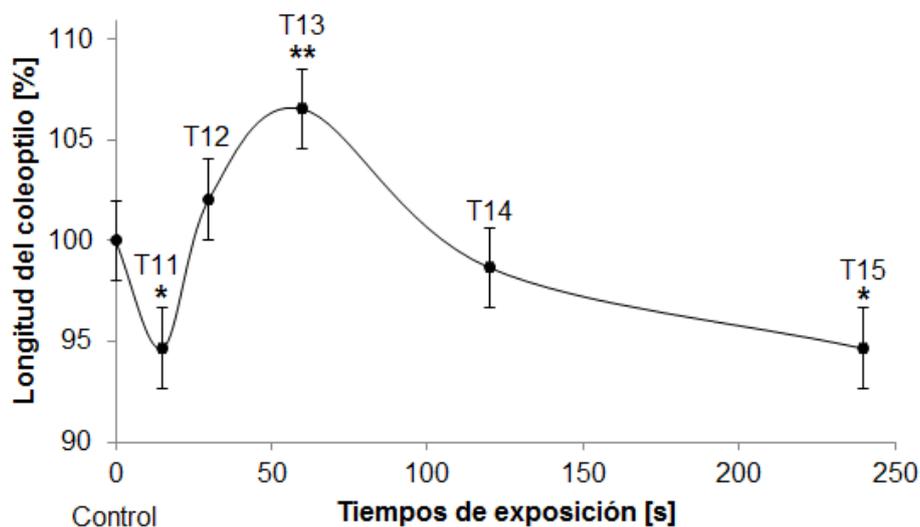


Fig. 2: Crecimiento del coleoptilo para una densidad de potencia de $60\text{mW}/\text{cm}^2$.

Crecimiento del sistema radicular

La longitud del sistema radicular registró dos crecimientos máximos y dos inhibiciones máximas con respecto al control los cuales fueron estadísticamente significativos ($p < 0.001$) y comparables en magnitud. Los dos crecimientos máximos se obtuvieron para una densidad de potencia de 60mW/cm^2 y tiempos de exposición de 30s (T12) y 60s (T13): las magnitudes fueron del 15.2% y 13.6% respectivamente (Fig. 4). Las dos inhibiciones máximas en el crecimiento del sistema radicular fueron obtenidas para una densidad de potencia de 15mW/cm^2 y tiempos de exposición de 120s (T4) y 240s (T5): las magnitudes de estas inhibiciones fueron del 17% y 13% respectivamente.

De los resultados obtenidos para el crecimiento del coleoptilo y el sistema radicular es posible concluir que este último fue más susceptible a los tratamientos láser que el primero mostrando de esta forma activaciones e inhibiciones mayores.

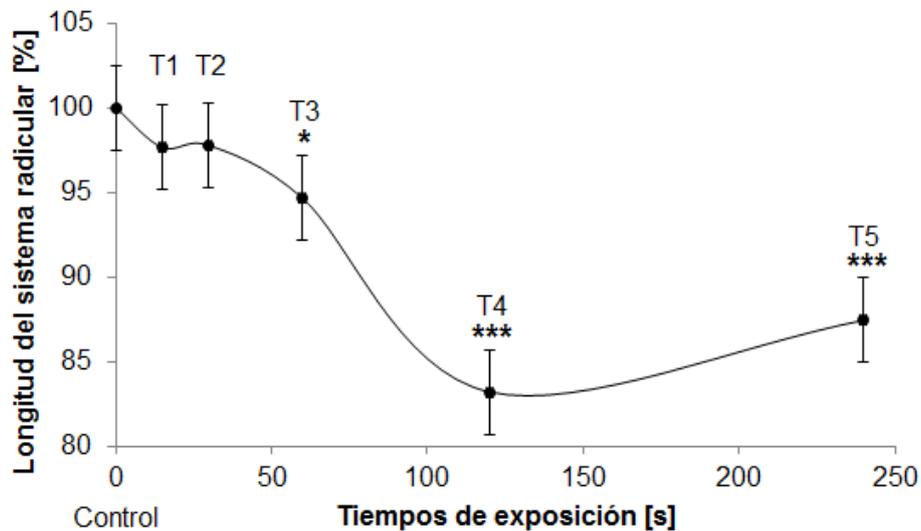


Fig. 3: Crecimiento del sistema radicular para una densidad de potencia de 15mW/cm^2 .

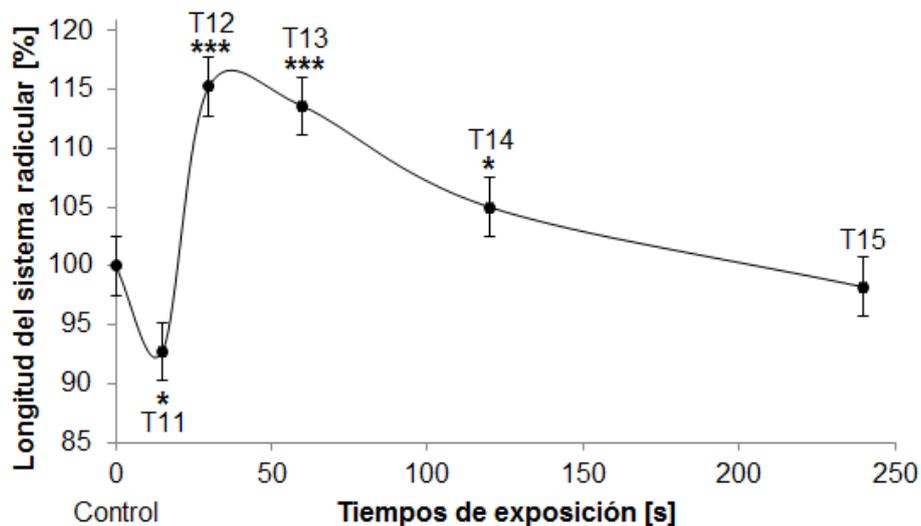


Fig. 4: Crecimiento del sistema radicular para una densidad de potencia de 60mW/cm^2 .

CONCLUSIONES

La radiación láser IR con longitud de onda $\lambda=980\text{nm}$ producida por un láser de diodo permite activar o inhibir el crecimiento del coleoptilo y del sistema radicular de la semillas de trigo en

función de la densidad de potencia y del tiempo de exposición seleccionado para su tratamiento antes de la siembra.

El efecto de mayor amplitud obtenido en el crecimiento del coleoptilo fue de 12% por debajo del nivel de control (efecto inhibitorio del crecimiento) para una densidad de potencia de 15mW/cm² y tiempo de exposición de 120s (T4).

El sistema radicular fue el más sensible a la radiación láser IR mostrando diversas activaciones e inhibiciones en su crecimiento. La máxima activación fue del 15.2% por arriba del nivel de control para una densidad de potencia de 60mW/cm² y tiempo de exposición de 30s (T12), mientras que la máxima inhibición fue del 17% por debajo del nivel de control para una densidad de potencia de 15mW/cm² y tiempo de exposición de 120s (T4).

No todos los tratamientos láser (T) produjeron cambios en el crecimiento del coleoptilo y del sistema radicular. Para una longitud de onda constante la densidad de potencia y el tiempo de exposición a la radiación láser determinan el efecto así como la amplitud del mismo.

REFERENCIAS

- Aladjadjyan Anna, *The use of physical methods for plant growing stimulation*, J. Cent. Eur. Agric., 8(3), 369-380 (2007).
- Dinoev St., Antonov M., Stoyanov T. y Georgieva Chr. *Spectral impact of low-power laser radiation on wheat and maize parameters*, Bulgarian Academy of Sciences, 54(1), 74-85 (2004).
- Drozd D. y Szajsner H., *Influence of presowing laser radiation on spring wheat characters*, Int. Agrophysics, 13(1), 79-85 (1999).
- Drozd D. y Szajsner H., *Effect of laser radiation on spring wheat genotypes*, Int. Agrophysics, 13(2), 197-202 (1998).
- Podleśny J. y Podleśna, A., *Morphological changes and yield of selected species of leguminous plants under the influence of seed treatment with laser light*, Int. Agrophys., 18(3), 253-260 (2004).
- Podleśny J., *Effect of laser irradiation on the biochemical changes in seeds and the accumulation of dry matter in the faba bean*, Int. Agrophys., 16(1), 209-213 (2002).
- Rybiński W. y Garczyński S., *Influence of laser light on leaf area and parameters of photosynthetic activity in DH lines of spring barley (*Hordeum vulgare* L.)*, Int. Agrophys., 18(3), 261-267 (2004).
- Salyaev R. K., Dudareva, L. V., Lankevich, S. V., Makarenko S. P., Sumtsova, V. M. y Rudikovskaya E. G., *The effect of Low-intensity laser irradiation on the chemical composition and structure of lipids in wheat tissue culture*, Dokl. Akad. Nauk., 412, 87-88 (2007).
- Salyaev R. K., Dudareva, L. V., Lankevich, S. V. y Sumtsova, V. M., *The effect of Low-intensity coherent radiation on morphogenetic processes in wheat callus culture*, Dokl. Akad. Nauk., 376, 113-114 (2001).
- Szajsner Hanna, *Comparison of the spring and winter wheat forms reactions to the pre-sowing laser biostimulation*, Acta Agrophysica, 2(3), 639-643 (2003).
- Vasilevski G., *Perspectives of the application of biophysical methods in sustainable agriculture*, Bulg. J. Plant Physiol., 29(3), 179-186 (2003).
- Villaseñor Mir H. E., Espitia Rangel E., Huerta Espino J., Solís Moya E., González Iñiguez R. M., Osorio Alcalá L. y Pérez Herrera P., *Triunfo F2004, new bread wheat cultivar for rainfed conditions in Mexico*, Agricultura Técnica en México, 33(3), 319-322 (2007).
- Zong-Bo Qiu, Xiao Liu, Xiang-Jun Tian y Ming Yue, *Effects of CO₂ laser pretreatment on drought stress resistance in wheat*, Journal of Photochemistry and Photobiology, 90(1), 17-25 (2008).

La Serena - Chile, 13 de Septiembre de 2011

Mauricio Hernández

Sección de Estudios de Posgrado e Investigación
(SEPI-ESIME-Zacatenco).
Unidad Profesional Adolfo López Mateos, Zacatenco
Del. Gustavo A. Madero, C.P. 07738
México D.F. – México

Estimado(a) autor(a):

Informamos a Ud. que el artículo titulado "*Efectos de Activación e Inhibición en el Crecimiento del Coleoptilo y del Sistema Radicular en Semillas de Trigo Provocados por la Radiación Láser IR con Longitud de Onda de 980nm*" de los autores Mauricio Hernández y Alexandre Michtchenko, ha sido aceptado para publicación en nuestra revista internacional "*INFORMACIÓN TECNOLÓGICA*", y será publicado en el volumen 23 número 2 (Marzo-Abril) del año 2012.

Si debe citar el trabajo en otras publicaciones puede hacerlo colocando: Autores, título, Inf. Tecnol. 23(2), en prensa (2012)

Agradeciendo su interés en nuestra revista, le saluda muy atentamente,



Dr. José O. Valderrama
Editor

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).

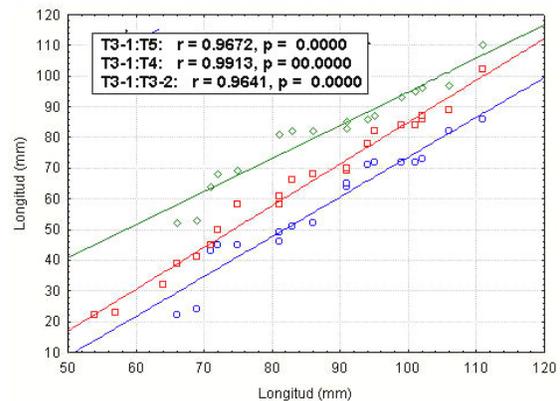
El láser semiconductor fue caracterizado antes de definir los tratamientos láser. Para medir la potencia del láser se procedió a utilizar una punta de potencia piroeléctrica modelo RjP735 conectada a un radiómetro piroeléctrico calibrado eléctricamente modelo Rs5900 de la compañía Laser Probe, USA. El 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



Rombo: Correlación entre las repeticiones T3-1 y T3-5.
Cuadrado: Correlación entre las repeticiones T3-1 y T3-4.
Círculo: Correlación entre las repeticiones T3-1 y T3-2.

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 $t_2=120\text{seg}$

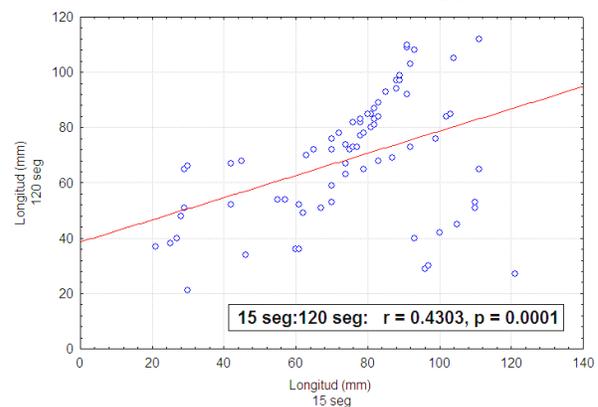


Figura 2. Gráfica de correlación para dos repeticiones seleccionadas aleatoriamente de los tratamientos láser T1 y T4 (correlación entre repeticiones de diferentes tratamientos).

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.

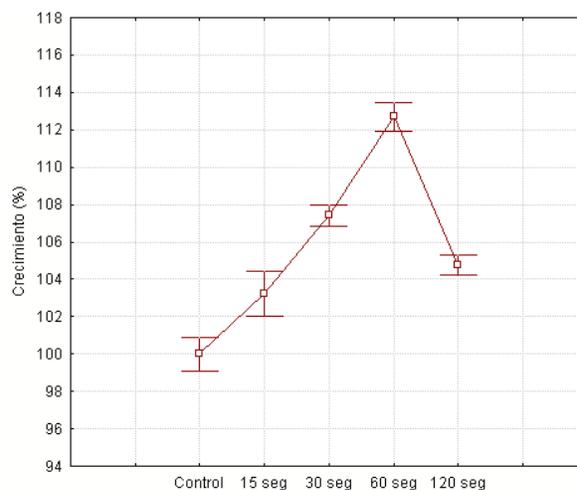


Figura 3. Gráfica del porcentaje de crecimiento para una intensidad de 15mWcm^{-2} y tiempos de exposición de 15s, 30s, 60s y 120 s.

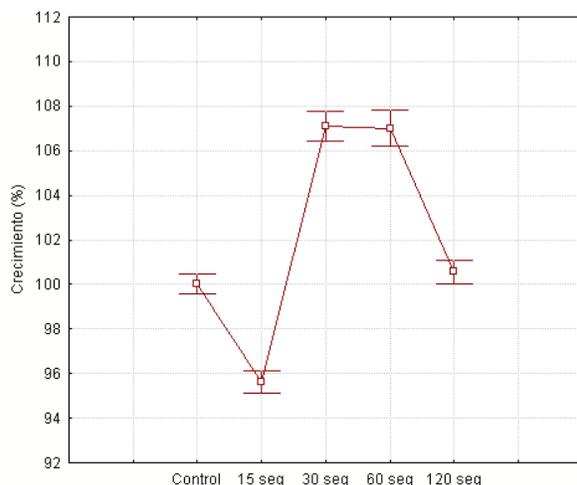


Figura 4 Gráfica del porcentaje de crecimiento para una intensidad de 30mWcm^{-2} y tiempos de exposición de 15, 30, 60 y 120 s.

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., "Resulsts 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 radiate 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 radiate 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).

Photobiostimulation of germination and early growth of wheat seeds (*Triticum aestivum* L) by a 980 nm semiconductor laser

A. Michtchenko and M. Hernández†.

Instituto Politécnico Nacional, SEPI-ESIME-Zacatenco, México, Distrito Federal;
amichtchenko@ipn.mx[†], mahernandezvi@ipn.mx
[†]autor para la correspondencia

Recibido el 2/06/10. Aprobado en versión final el 12/11/10.

Sumario. El efecto de la exposición de semillas de trigo (*Triticum aestivum* L) a la radiación láser IR con $\lambda = 980$ nm en la germinación y el crecimiento temprano se estudiaron bajo condiciones de laboratorio. Las semillas fueron expuestas a una de dos intensidades de la luz láser: 15 mWcm⁻² or 30 mWcm⁻² por diferentes periodos de tiempo: 30, 60 o 120 s. Las semillas expuestas a una intensidad de la luz láser de 15mWcm⁻² por un tiempo de radiación de 30 s mostraron un incremento en el porcentaje de semillas germinadas normalmente mientras que el porcentaje de semillas germinadas anormalmente decreció. Al mismo tiempo se presentó un efecto de estimulación en el crecimiento del tallo y en el crecimiento de las raíces del 10% con respecto al control. Para el tratamiento antes mencionado y el control existe una diferencia significativa de $p < 0.001$.

Abstract. The effect of the exposure of wheat (*Triticum aestivum* L) seeds to a IR laser radiation with $\lambda = 980$ nm produced by a semiconductor laser on germination and early growth had been studied under laboratory conditions. Seeds were irradiated to one of two laser intensities 15 mWcm⁻² or 30 mWcm⁻² for different periods of time 30, 60 or 120 s. Seeds exposed to a light intensity of 15mWcm⁻² and an exposition time of 30 s. showed an increase on the percentage of seeds germinated normally while the percentage of seeds germinated abnormally decreased. At the same time there is a stimulation effect on the growth of the stem and on the growth of the root of 10% on wheat seedlings over control seedlings. Significant differences ($p < 0.001$) were observed between the control and the above treatment.

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

1 Introduction*

Important features in seeds are their ability to germinate and to grow¹. The initial stages of germination and growth of seeds determine the further development of

plants and their final yield. To improve the initial stages of seeds different chemical and physical methods are used. The aim of these methods is the appropriate preparation of the sowing material to improve seed sprouting, growth and vigor². More active and vigorous plants develop better and are better suited to endure unfavorable habitats, at the same time they are also less susceptible to disease.

The laser radiation has been used by different researchers^{1-6, 8-19} as a physical method to improve the ger-

***Editor's note:** Even though this paper was originally sent to *Tecnolaser 2009*, it was not possible to include it in the special number devoted to the conference (vol. 27, 1, 2010). Its refereeing has been full responsibility of the *Tecnolaser Organizing Committee*.

mination, the growth and the vigor of seeds. Podlesny et al.⁸ reported that the use of a He-Ne laser with $\lambda = 632.8$ nm modifies the initial phases of development of white lupine and faba bean seeds. Wilczek et al.¹⁰ treated *Trifolium pretense L* and *Medicago sativa L* seeds with a He-Ne laser with $\lambda = 632.8$ nm. The results they obtained show that the percentage of seeds germinating abnormally, the percentage of hard seeds and the percentage of seeds infected with fungal diseases decreases with respect to control. Szyrmer et al.¹¹ reported that the laser treatment of *Phaseolus vulgaris L* seeds can modify the course of the metabolic processes as well as their photosynthetic activity. Laszkiewicz et al.¹² observed that seeds treated with laser radiation have better energy and ability to germinate. Drozd et al.¹³ reported that the laser treatment of wheat seeds stimulates the early growth and development of the coleoptiles. Dziamba et al.¹⁵ used laser radiation to improve and balance seedling emergence of *Hordeum vulgare L* seeds.

In most of the reviewed articles^{3,5,16-19} the researchers used He-Ne and argon lasers to treat seeds (lasers in the visible spectrum), but not only these kind of lasers can be used. Infrared laser can be used to produce stimulation effects

Due the above the principal objective of our work is to determine the optimal parameters of the IR laser radiation with $\lambda = 980\text{nm}$ produced by a semiconductor diode to stimulate the germination and growth of wheat seeds (*Triticum aestivum L*).

2 Materials and methods

Wheat seeds (*Triticum aestivum L*) were supplied by the National Institute of Forest, Agriculture and Livestock Researches of Mexico (INIFAP). Wheat variety was Triunfo, developed by the institute above mentioned and the International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT).

The IR semiconductor laser was characterized before apply laser radiation to the wheat seeds. The power of the semiconductor laser was measured using a pyroelectric power probe model RjP735 connected to an electrically calibrated pyroelectric radiometer model Rs5900 from the company Laser Probe, USA. The radiation pattern was measured with a photodiode system designed at our laboratory. Due the light of the semiconductor laser presented a gauss distribution, only the central area with variations of power of 10% with respect to the maximum power was considered for applications for seeds.

Six laser treatments were defined to treat the wheat seeds. The treatments were:

- Exposition of wheat seeds to a power density of 15mWcm^{-2} for three different exposition times: 30s (T1), 60s (T2), 120s (T3).
- Exposition of wheat seeds to a power density of 30mWcm^{-2} for three different exposition times: 30s (T4), 60s (T5), 120s (T6).

Once defined the laser treatments, groups of 400

seeds were treated with each laser treatment. Analogous groups were used as control (non-treated seeds). Each group of 400 seeds was divided in 16 repetitions with 25 seeds in each one. Repetitions were labeled and randomly located into the germination chamber.

Treatments	% of seeds		
	germinated normally	germinated abnormally	non-germinated seeds
Control	83	14	3
T1	91***	5***	4
T2	90***	6***	4
T3	87*	5***	8**
T4	86	11	3
T5	86	10*	4
T6	87*	10*	3

* Significant differences: $\rho < 0.05$. ** Significant differences: $\rho < 0.01$. *** Significant differences: $\rho < 0.001$.

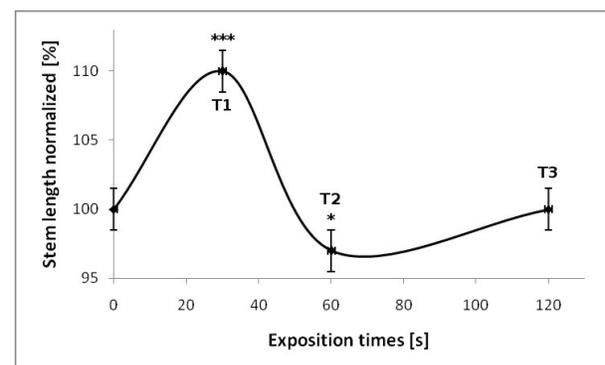


Figure 1. Stem length of wheat seedlings from seeds exposed to a power density of 15mW cm^{-2} and three different exposition times: 30s, 60s and 120 s. The graph includes the standard error of the mean.

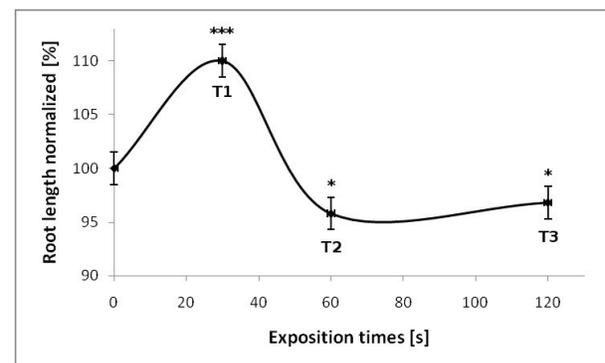


Figure 2. Root length of wheat seedlings from seeds exposed to a power density of 15mW cm^{-2} and three different exposition times: 30, 60 and 120 s. The graph includes the standard error of the mean.

The germination and the growth tests were carried out under laboratory conditions. The temperature of the germination and growth tests was of 20°C and the hu-

midity was 90%. During all the experimental period only distilled water was used to evaluate only the effects of laser treatments. No other substances were added to distilled water and to seeds.

For the germination tests the number of seeds that had germinated was counted after 4 and 10 days. After the tenth day the percentages of seeds germinated normally and abnormally as well as the percentage of seeds that had not germinated at all were calculated.

The growth of wheat seedlings was evaluated in terms of the following magnitudes: the stem length and the root length. The growth data were normalized using the control data.

Germination and growth data were analyzed statistically. For the germination data a Student *t*-test was done to find the significant differences between each laser treatment and control. For the growth data, they were subjected to an analysis of variance (ANOVA) to detect differences between mean parameters. The mean parameters later were compared using the Tukey test (multiple comparisons) to detect differences between the control and treated plants.

3 Results

Table I shows the percentage of seeds germinated normally and abnormally as well as the percentage of non-germinated seeds after laser treatment. From this table it is possible to observe that there are two important increase on the percentage of seeds germinated normally for treatments T1 and T2 while there are two important decreases on the percentage of seeds germinated abnormally for the same treatments. For treatments T1 and T2 the increases registered on the percentage of seeds germinated normally were 8% and 7% respectively while the decreases registered on the percentage of seeds germinated abnormally were 9% and 8% respectively. These treatments presented a statistical significant value of $p < 0.001$ for the percentages of seeds germinated normally and abnormally.

For the percentage of non-germinated seeds there were not important increases or decreases on this variable.

Figure 1 shows the stem length for wheat seeds treated with a power density of 15 mW cm^{-2} and three different exposition times: 30s (T1), 60s (T2), 120s (T3). The control is represented with the value of 0s. An important increase on the stem length for wheat seedlings was obtained for an exposition time of 30s (T1). The increase registered had a value of 10% over the control level. The statistical significance had a value of $p < 0.001$. The other treatments did not show significant differences.

Figure 2 shows the root length for wheat seeds treated with a power density of 15 mW cm^{-2} and three different exposition times: 30s (T1), 60s (T2), 120s (T3). As mentioned above the control is represented with the value of 0s. From this figure it is possible to observe that for this

power density the highest increase was registered for an exposition time of 30s (T1). The increase registered over the control level was 10%. The statistical significance for this treatment had a value of $p < 0.001$. The exposition times of 60s (T2) and 120s (T3) produced decreases on the root length that were not statistically significant.

Figures 3 and 4 show the stem length and the root length respectively for wheat seeds treated with a power density of 30 mW cm^{-2} and three different exposition times: 30s (T4), 60s (T5), 120s (T6). As mentioned above the control is represented with the value of 0s. From these figures it is possible to observe that the laser treatment of wheat seeds for this power density did not modify significantly the growth of the stem and of the roots.

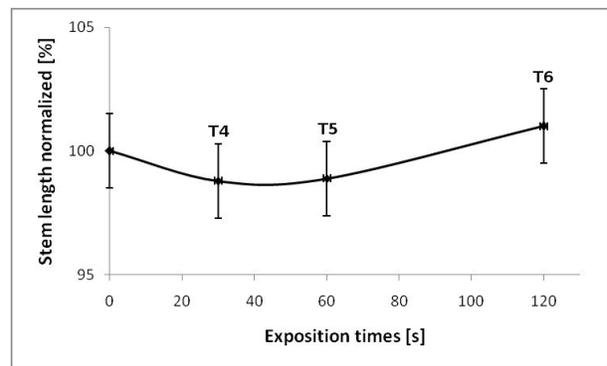


Figure 3. Stem length of wheat seedlings from seeds exposed to a power density of 30 mW cm^{-2} and three different exposition times: 30, 60 and 120 s. The graph includes the standard error of the mean.

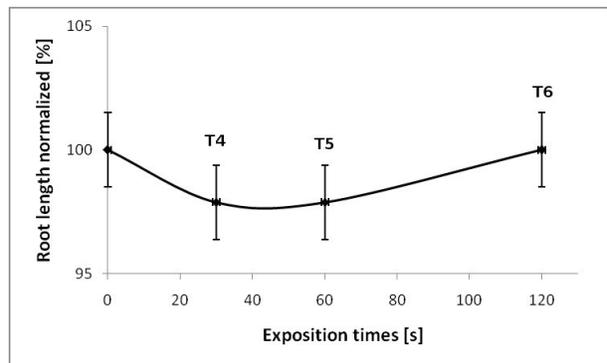


Figure 4. Root length of wheat seedlings from seeds exposed to a power density of 30 mW cm^{-2} and three different exposition times: 30, 60 and 120 s. The graph includes the standard error of the mean.

4 Conclusions

The laser radiation produced by a semiconductor laser, with a wavelength of 980nm, modifies the germination and velocity of growth of wheat seeds when they are treated before sowing with the laser radiation.

The power density of laser radiation and the exposition time for a definite wavelength are the important parameters that can activate or inhibit the germination and the velocity of growth of wheat seeds. When the power density and the exposition time to laser radiation are optimal it is possible to improve the initial stages of growth of wheat seeds (germination and growth).

The laser treatments of wheat seeds T1 and T2 caused an increase on the percentage of seeds germinated normally and a decrease on the percentages of seeds germinated abnormally. At the same for the treatment T1 there is a stimulation effect on the growth of the stem and the root of the seedlings.

References

1. Wilczek M., Koper R. Cwintal M., Kornilowicz-Kowalska T., "Germination capacity and the health status of red clover seeds following laser treatment.", *Int. Agrophys*, Vol. 18(3), 289-293 (2004).
2. Podlesny J., Podlesna, A., "Morphological changes and yield of selected species of leguminous plants under the influence of seed treatment with laser light.", *Int. Agrophys*. Vol. 18 (3), 253-260 (2004).
3. Aladjadjian A., "The use of physical methods for plant growing stimulation in Bulgaria." *Journal of Central European Agriculture*, Vol. 8:3, 369-380 (2007).
4. Rybinska W., Garczyński S., "Influence of laser light on leaf area and parameters of photosynthetic activity in DH lines of spring barley (*Hordeum vulgare* L.)." *Int. Agrophys*, Vol. 18(3), 261-267 (2004).
5. Chen Y., Liu Y., Wang X., Ren Z., Yue M., "Effect of microwave and He-Ne laser on enzyme activity and biophoton emission of *Isatis indigotica* fort." Vol. 47:7, 849-855 (2005).
6. Chirkova, T.V., "Physiological mechanism of stability in plants.", St. Petersburg, S.-Peterb. U. (2002).
7. Karu T. I., "The science of low power therapy.", London: Harwood (1998).
8. Podlesny J., Podlesna, A., "Morphological changes and yield of selected species of leguminous plants under the influence of seed treatment with laser light.", *Int. Agrophys*. Vol. 18 (3), 253-260 (2004).
9. Podlesny J., "Effect of laser irradiation on the biochemical changes in seeds and the accumulation of dry matter in the faba bean." *Int. Agrophys*, Vol. 16, 209-213 (2002).
10. Wilczek M., Koper R., Cwintal M., Kornilowicz-Kowalska T., "Germination capacity and the health status of alfalfa seeds after laser treatment.", *Int. Agrophys*, Vol. 19(1), 85-89 (2005).
11. Szyrmer J., Klimont K., "The influence of laser bio-stimulation on the quality of French bean (*Phaseolus vulgaris* L) seeds.", *Biul. IHAR*, 210, 165-168 (1999).
12. Laszkiewicz E., "Application of laser irradiation to improve sowing quality of durum wheat seeds.", *Proc. 1st. Int. Sci. Conf. Agrolaser*, Lublin, 26-28.09, 45-50 (2001).
13. Drozd D.T., Szajsner H., Turzyniecka-Malysz H., "Application of laser irradiation to increase of wheat sowing value-years 1993-1997.", *Proc. 1st. Int. Sci. Conf. Agrolaser*, Lublin, 26-28.09, 13-17 (2001).
14. Drozd D.T., Szajsner H., "Influence of presowing laser radiation on spring wheat characters.", *Int. Agrophys*. Vol. 13, 79-85 (1999).
15. Dziamba S., Dziamba M., "Influence of pre-sowing light radiation of seeds on yielding and elements of yield structure in spring barley.", *Proc. 1st. Int. Sci. Conf. Agrolaser*, Lublin, 26-28.09, 19-24 (2001).
16. Malov A.N., Vygovskii Yu. Nu., "The physics of laser Biostimulation, Moscow, MILTA (2002).
17. Petkova V., Cholakov D., "Physiological behavior of tomato and cucumber plants caused by day or night Helium-Neon laser irradiation of their seeds.", *Acta Hort. (ISHS)*, 579, 281-284 (2002).
18. Salyaev R. K., Dudareva, L. V., Lankevich, S. V., Makarenko S. P., Sumtsova, V. M., Rudikovskaya E. G., "The effect of Low-intensity laser irradiation on the chemical composition and structure of lipids in wheat tissue culture.", *Dokl. Akad. Nauk.*, 412, 87-88 (2007).
19. Salyaev R. K., Dudareva, L. V., Lankevich, S. V., Sumtsova, V. M., "The effect of Low-intensity coherent radiation on morphogenetic processes in wheat callus culture.", *Dokl. Akad. Nauk.*, 376, 113-114 (2001).
20. ISTA, International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Assoc. Zurich, Switzerland (2008).