



# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

COORDINACIÓN GENERAL ACADÉMICA

Coordinación de Bibliotecas

Biblioteca Digital

La presente tesis es publicada a texto completo en virtud de que el autor ha dado su autorización por escrito para la incorporación del documento a la Biblioteca Digital y al Repositorio Institucional de la Universidad de Guadalajara, esto sin sufrir menoscabo sobre sus derechos como autor de la obra y los usos que posteriormente quiera darle a la misma.

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

## Centro Universitario de los Lagos

Maestría en Ciencia y Tecnología



**“Tratamiento con láser He-Ne y diodos emisores de luz (LEDs): su efecto en la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos variedades de *Capsicum annuum* (Solanaceae)”**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE “MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA”

Presenta

**ING. ALEJANDRA MARÍA MORENO JIMÉNEZ**

**Director de Tesis:**

**Dra. en C. SOFÍA LOZA CORNEJO**

**Co-director de Tesis:**

**Mtro. en C. MARTÍN ORTIZ MORALES**

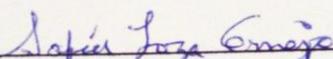
**Lagos de Moreno, Jalisco Julio 2017**

Lagos de Moreno, Jal. a 6 de Julio de 2017

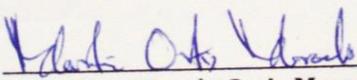
**Dr. Francisco Gerardo Peña Lecona**  
Coordinador de la Maestría en Ciencia y Tecnología  
PRESENTE

Por medio del presente los abajo firmantes manifestamos que hemos leído el manuscrito "TRATAMIENTO CON LÁSER HE-NE Y DIODOS EMISORES DE LUZ (LEDS): SU EFECTO EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS Y DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE DOS VARIEDADES DE *CAPSICUM ANNUUM* (SOLANACEAE)" que presenta la estudiante **ALEJANDRA MARÍA MORENO JIMÉNEZ (CÓDIGO 206544282)** para obtener el título de **Maestro en Ciencia y Tecnología**. Habiéndose revisado y realizado las correcciones correspondientes, damos el visto bueno para que se imprima el documento final.

Director de Tesis

  
**Dra. Sofia Loza Cornejo**  
Profesor Investigador del Centro  
Universitario de los Lagos

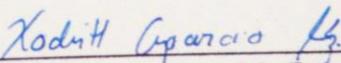
Codirector

  
**Mtro. Martín Ortiz Morales**  
Investigador del Centro de  
Investigaciones en Óptica

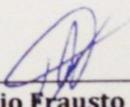
Firma del Lector 1

  
**Dra. María de la Luz Miranda Beltrán**  
Profesor Investigador del Centro  
Universitario de los Lagos

Firma del Lector 2

  
**Dra. Xochitl Aparicio Fernández**  
Profesor Investigador del Centro  
Universitario de los Lagos

Firma del Lector 3

  
**Dr. Claudio Frausto Reyes**  
Investigador del Centro de  
Investigaciones en Óptica

## AGRADECIMIENTOS

A mi Directora de tesis, la Dra. Sofía Loza Cornejo por la confianza, sus consejos, las enseñanzas, el apoyo incondicional para la realización de este trabajo y todo lo que está detrás, pero sobre todo por su excelente calidad humana y por compartirme el amor por la investigación y las plantas.

A mi Co-Director de tesis, el Maestro Martin Ortiz Morales por todas sus aportaciones, asesorías, paciencia y la colaboración infinita a lo largo del desarrollo de este proyecto.

Al Centro de Investigaciones en Óptica (CIO), Unidad Aguascalientes, por sus atenciones, por recibirme tan amablemente en sus instalaciones y permitirme utilizar sus equipos, fundamentales para esta investigación.

A mi casa de estudios, la Universidad de Guadalajara, por abrirme sus puertas para poder emprender este proyecto y así cumplir miles de sueños y metas. A la coordinación de la Maestría en Ciencia y Tecnología y a Secretaría Administrativa, por el apoyo en el recorrido de este camino.

A mis sinodales, Dra. María de la Luz Miranda Beltrán, Dra. Xochitl Aparicio Fernández y Dr. Claudio Frausto Reyes; por su valiosa guía y dedicación en la revisión y corrección de este trabajo escrito.

A cada uno de los Profesores que impulsaron mi desarrollo así como mi formación profesional y científica.

A mi tío Jesús Alberto Jiménez Herrera, por motivarme a seguir estudiando así como su ayuda diaria en todos los aspectos de mi vida, especialmente académicos.

A mi papa Benjamín Moreno, por ser mi ayudante fiel y por estos últimos dos años en los cuales dedicaste tus mañanas en llevarme a la Universidad.

Al personal de intendencia y seguridad, por su amabilidad, por cuidar de mi todos los días mientras estaba sola en la universidad, por entretenerme y por alegrarme en momentos de estrés.

A la familia Reyes Padilla, en especial a Ruth Paola por su apoyo absoluto, por cuidar de mis plantas, por acompañarme en el laboratorio y en las presentaciones, pero sobre todo por su cariño y amistad.

Por ultimo agradezco infinitamente a Dios, por colocarme aquí y por haberme dado fuerza y perseverancia suficiente para culminar esta etapa de mi vida.

## DEDICATORIA

*Dedico este trabajo a mis padres, por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, a Alejandra Jiménez † mi madre; mujer incansable, guerrera, bondadosa y amorosa, gracias por ser mi ejemplo a seguir, a Benjamín Moreno mi padre; hombre trabajador, generoso, alegre y protector, gracias por hacerme fuerte y dedicada.*

*Al resto de mi familia; mis hermanos, sobrina, abuelita, tíos, amigos y compañeros, que me apoyaron cada día en mi formación profesional, tuvieron palabras de aliento para seguir adelante, me demostraron su cariño e hicieron que cambiara ratos de tensión y nervios por alegría y risas.*

*A ti Rodrigo, amor de mi vida, por tu comprensión, paciencia, tolerancia, amor, compañía, ayuda, por compartir y apoyar mis sueños, simplemente por todo.*

*A cada uno de ustedes los quiero y agradezco infinitamente tenerlos en mi vida.*

*Todo este trabajo ha sido posible gracias a ustedes.*

*“En este lugar perdemos demasiado tiempo mirando hacia atrás. Camina hacia el futuro, abriendo nuevas puertas y probando cosas nuevas, se curioso... porque nuestra curiosidad siempre nos conduce por nuevos caminos.”*

*Walt Disney*

Este trabajo de tesis se realizó en el Centro Universitario de los Lagos de la Universidad de Guadalajara y en el Laboratorio de Aplicaciones de Láseres del Centro de Investigaciones en Óptica (CIO) Unidad Aguascalientes, con apoyo del posgrado en Ciencia y Tecnología del Centro Universitario de los Lagos de la Universidad de Guadalajara y el programa de becas de posgrado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), durante el periodo 2015-2017.

<b>ÍNDICE GENERAL</b>	
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	V
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	VII
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	VIII
<b>RESUMEN</b>	IX
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>2. ANTECEDENTES</b>	2
<b>2.1 Clasificación taxonómica y descripción botánica de la especie <i>Capsicum annuum</i> (L.)</b>	2
<b>2.2 Variedades de chile</b>	3
2.2.1 <i>Capsicum annuum</i> var. <i>Poblano</i>	3
2.2.2 <i>Capsicum annuum</i> var. <i>Serrano</i>	4
<b>2.3 Distribución geográfica de <i>Capsicum annuum</i></b>	4
2.3.1 Distribución mundial de <i>Capsicum annuum</i>	4
2.3.2 <i>Capsicum annuum</i> en México	5
<b>2.4 Impacto e importancia del chile (<i>Capsicum annuum</i>)</b>	6
2.4.1 Valor económico del cultivo de <i>Capsicum annuum</i>	6
2.4.2 <i>Capsicum annuum</i> y su papel en la alimentación	6
2.4.3 Uso medicinal y/o farmacológico de <i>Capsicum annuum</i>	7
<b>2.5 Morfología y estructura de la semilla</b>	8
2.5.1 Definición de semilla	8

2.5.2	Partes que constituyen una semilla	8
2.5.3	Proceso de germinación	9
<b>2.6</b>	<b>Tratamientos pre-germinativos</b>	9
2.6.1	Métodos químicos	10
2.6.2	Métodos físicos	11
<b>2.7</b>	<b>Tratamiento pre-germinativo con láser</b>	12
2.7.1	Láser He-Ne	13
2.7.2	Especies vegetales irradiadas con láser He-Ne como tratamiento pre-germinativo	14
<b>2.8</b>	<b>Crecimiento y morfogénesis de plantas</b>	14
<b>2.9</b>	<b>La luz y la fotosíntesis</b>	16
2.9.1	La luz como factor regulador de crecimiento vegetal	17
2.9.2	Efecto de los diodos emisores de luz (LEDs) sobre las plantas	19
<b>3.</b>	<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	20
<b>4.</b>	<b>JUSTIFICACIÓN</b>	21
<b>5.</b>	<b>HIPÓTESIS</b>	22
<b>6.</b>	<b>OBJETIVOS</b>	22
6.1	Objetivo general	22
6.2	Objetivos particulares	22
<b>7.</b>	<b>DISEÑO METODOLÓGICO Y EXPERIMENTAL</b>	23
7.1	Obtención del material	23

7.1.1	Caracterización morfológica de la semilla	23
<b>7.2</b>	<b>Tratamiento pre-germinativo <i>in vitro</i></b>	<b>23</b>
7.2.1	Irradiación láser He-Ne	23
7.2.2	Diodos emisores de luz LED	24
7.2.3	Variables a evaluar del tratamiento pre-germinativo <i>in vitro</i>	24
<b>7.3</b>	<b>Tratamiento con luz LED en el crecimiento de plántulas en sustrato orgánico</b>	<b>25</b>
7.3.1	Variables a evaluar del tratamiento con luz LED en el crecimiento de plántulas en sustrato orgánico	27
7.3.1.1	Variables morfológicas de crecimiento	27
7.3.1.2	Variables anatómicas	28
7.3.1.3	Variables histoquímicas	29
7.3.1.4	Variables fisiológicas	30
<b>7.4</b>	<b>Crecimiento de plántulas en invernadero</b>	<b>33</b>
7.4.1	Variables a evaluar del crecimiento de plántulas en invernadero	33
<b>7.5</b>	<b>Análisis estadístico</b>	<b>33</b>
<b>8.</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>34</b>
<b>8.1</b>	<b>Caracterización morfológica de la semilla</b>	<b>34</b>
<b>8.2</b>	<b>Germinación y crecimiento inicial de las plántulas</b>	<b>34</b>
<b>8.3</b>	<b>Crecimiento de plántulas en condiciones de laboratorio</b>	<b>40</b>
8.3.1	Morfología de plántulas	40
8.3.2	Anatomía de la epidermis: Número de estomas	40
8.3.3	Fisiología de plántulas	44

<b>8.4</b>	<b>Crecimiento de plántulas en invernadero</b>	46
8.4.1	Morfología de plántulas	46
8.4.2	Anatomía e histoquímica de plántulas	49
8.4.3	Fisiología de plántulas	62
<b>9.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	69
<b>9.1</b>	<b>Germinación y crecimiento de las plántulas</b>	69
<b>9.2</b>	<b>Anatomía e histoquímica de plántulas</b>	70
<b>9.3</b>	<b>Fisiología de plántulas</b>	72
<b>10.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	74
<b>11.</b>	<b>PERSPECTIVAS</b>	75
<b>12.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	76
<b>13.</b>	<b>GLOSARIO</b>	92

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mapa de distribución de <i>Capsicum annuum</i> en México	5
<b>Figura 2.</b> Esquema de la morfología de una planta con flor	15
<b>Figura 3.</b> Espectro de absorción de los pigmentos fotosintéticos	18
<b>Figura 4.</b> Arreglo del láser He-Ne para la irradiación de las semillas	23
<b>Figura 5.</b> Dispositivo láser He-Ne para el tratamiento de irradiación de las semillas	24
<b>Figura 6.</b> Esquema de las cámaras con instalaciones de focos LEDs para el tratamiento de las semillas	26
<b>Figura 7.</b> Esquema de los anaqueles con instalaciones eléctricas y focos LEDs para el tratamiento de las plántulas	26
<b>Figura 8.</b> Distribución relativa de la densidad espectral de flujo de fotones (DREF) de los tratamientos de luz.	27
<b>Figura 9.</b> Porcentaje de Germinación de semillas de <i>Capsicum annuum</i>	35
<b>Figura 10.</b> Índice de Velocidad de Germinación de semillas de <i>Capsicum annuum</i>	37
<b>Figura 11.</b> Número de estomas en el envés de las hojas de <i>Capsicum annuum</i> en Etapa II	43
<b>Figura 12.</b> Índice de contenido de clorofila de plantas de <i>Capsicum annuum</i> en Etapa II	45
<b>Figura 13.</b> Micrografía de la epidermis de <i>Capsicum annuum</i> en vista superficial.	49
<b>Figura 14.</b> Número de estomas en el envés de las hojas de <i>Capsicum annuum</i> en Etapa VI	50

<b>Figura 15.</b> Vista superficial de la hoja de <i>Capsicum annuum</i> var. poblano, teñida con floroglucinol	52
<b>Figura 16.</b> Vista superficial de la hoja de <i>Capsicum annuum</i> var. serrano, teñida con floroglucinol	53
<b>Figura 17.</b> Vista superficial de la hoja de <i>Capsicum annuum</i> var. poblano, teñida con lugol	54
<b>Figura 18.</b> Vista superficial de la hoja de <i>Capsicum annuum</i> var. serrano, teñida con lugol	55
<b>Figura 19.</b> Vista superficial de la hoja de <i>Capsicum annuum</i> var. poblano, teñida con Sudan IV	56
<b>Figura 20.</b> Vista superficial de la hoja de <i>Capsicum annuum</i> var. serrano, teñida con Sudan IV	57
<b>Figura 21.</b> Vista superficial de la hoja de <i>Capsicum annuum</i> var. poblano, teñida con azul negro de naftol	58
<b>Figura 22.</b> Vista superficial de la hoja de <i>Capsicum annuum</i> var. serrano, teñida con azul negro de naftol	59
<b>Figura 23.</b> Vista superficial de la hoja de <i>Capsicum annuum</i> var. poblano, teñida con reactivo de Schiff	60
<b>Figura 24.</b> Vista superficial de la hoja de <i>Capsicum annuum</i> var. serrano, teñida con reactivo de Schiff	61
<b>Figura 25.</b> Protones titulables en plantas de chile poblano y serrano en Etapas IV, V y VI	63
<b>Figura 26.</b> Índice de contenido de clorofila de plantas de <i>Capsicum annuum</i> en Etapa VI	65
<b>Figura 27.</b> Contenido de clorofila total y carotenoides en plantas de chile poblano en Etapas IV, V y VI	67
<b>Figura 28.</b> Contenido de clorofila total y carotenoides en plantas de chile serrano en Etapas IV, V y VI	68

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Caracteres morfológicos de semillas de chiles poblano y serrano	34
<b>Cuadro 2.</b> Caracteres morfológicos de plántulas de chile poblano en Etapa I	38
<b>Cuadro 3.</b> Caracteres morfológicos de plántulas de chile serrano en Etapa I	39
<b>Cuadro 4.</b> Caracteres morfológicos de plántulas de chile poblano en Etapa II	41
<b>Cuadro 5.</b> Caracteres morfológicos de plántulas de chile serrano en Etapa II	42
<b>Cuadro 6.</b> Caracteres morfológicos de plántulas de chile poblano en Etapa VI	47
<b>Cuadro 7.</b> Caracteres morfológicos de plántulas de chile serrano en Etapa VI	48

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**CCI:** Unidades de índice de contenido de clorofila del CCM-200 plus

**Cr:** Cristal

**Diam:** Diámetro

**E:** Etapa

**He-Ne:** Helio-Neón

**ICC:** Índice de contenido de clorofila medido con el CCM-200 plus

**IVG:** Índice de velocidad de germinación

**LED:** Diodo emisor de luz

**Long:** Longitud

**n:** Número representativo de la muestra

**nm:** Nanómetro

**PG:** Porcentaje de germinación

**s:** Segundo

**SIR:** Tratamiento sin irradiación láser He-Ne

**var:** Variedad

## RESUMEN

En este estudio se evaluó el efecto bioestimulador que ejerce el tratamiento con láser He-Ne y diodos emisores de luz (LEDs), sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos variedades de *Capsicum annuum* (Solanaceae). Se empleó un láser He-Ne de 10 mW de potencia, una longitud de onda de 632.8 nm y una densidad de potencia de 2.63 mW/cm<sup>2</sup>, los períodos de exposición fueron 30, 60 y 120 segundos y un control (semillas no irradiadas). Adicionalmente, las semillas se expusieron a diferentes tratamientos de luz: LED blanca, con picos de longitud de onda en 450 y 550 nm (98  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ); LED azul, con pico de longitud de onda en 460 nm (78  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ); LED roja, con pico de longitud de onda en 640 nm (40  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) y como control luz fluorescente, con picos de longitud de onda en 430, 540 y 610 nm (100  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), con un fotoperiodo de 11 horas de luz y 13 de oscuridad. Una vez germinadas las plántulas, continuaron con la exposición a la luz por 30 días y posteriormente se mantuvieron en invernadero hasta los 120 días para observar su evolución. Se aplicó un diseño experimental completamente al azar, un análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de Tukey ( $p < 0.05$ ), con tres repeticiones de 50 semillas por tratamiento. Los resultados demostraron que plántulas tratadas con 120 s de irradiación en combinación con luz LED azul presentaron el mejor desarrollo germinativo, morfo-anatómico y fisiológico de las dos variedades estudiadas (poblano y serrano). Se concluye que la exposición al láser He-Ne y diodos emisores de luz sobre el chile poblano y serrano (*Capsicum annuum*), constituyen métodos viables para la propagación y desarrollo de la especie.

## 1. INTRODUCCIÓN

El uso de métodos físicos se ha destacado como una alternativa eficaz para mejorar la producción de plantas sin dañar el ambiente, ya que los factores físicos son elementos del entorno natural. La luz por ejemplo, es una condición necesaria para la fotosíntesis, el proceso más importante en la vida de los organismos vegetales (Aladadjjiyan, 2012). La calidad de la luz influye en el crecimiento de las células, tejidos, características fotosintéticas y rendimiento de los cultivos; determina las cualidades fisiológicas, morfológicas, la regulación de estrés y el envejecimiento de las hojas (Liu y cols., 2011). Los principales métodos físicos utilizados en el tratamiento estimulante de semillas son los campos electromagnéticos, el ultrasonido, el láser y las dosis bajas de radiaciones ionizantes (Álvarez y cols., 2013).

El láser, es un dispositivo óptico que genera un haz luminoso de una sola frecuencia, monocromático y coherente, mediante la estimulación de los átomos, moléculas o iones de un material. La irradiación láser tiene un efecto importante en sistemas biológicos, en las plantas es un fenómeno físico que se basa en la capacidad que tienen las células y tejidos vegetales para absorber y almacenar energía radiante, el mismo fenómeno puede ser observado en el caso de las semillas (Garret, 1967). De acuerdo con Landis y cols. (2013), los diodos emisores son fuentes de luz de banda estrecha, larga duración y resistencia; la vida útil de las unidades LED es significativamente más larga que las fuentes de luz artificial tradicionales usadas en horticultura y a diferencia de las lámparas tradicionales, los LED no se queman, por lo cual son de gran utilidad en gran variedad de aplicaciones de horticultura y foto-biología. Los LED se han utilizado con éxito para el cultivo de varias especies de plantas hortícolas, incluyendo lechuga, pepino, pimiento, espinaca, rábano, col china y tomate (Li y cols., 2012).

En lo que respecta al cultivo de chile (*Capsicum spp.*), se han utilizado métodos satisfactorios de acondicionamiento osmótico, reguladores de crecimiento (Garruña y cols., 2014), diferentes condiciones de luz-oscuridad e hidrotermia (Prado y cols., 2015). Aunque se han realizado estudios en semillas de *Capsicum* con tratamientos de irradiación láser y luces LEDs (Álvarez y cols., 2014; Brown, y cols., 1995), no se han utilizado ambos procedimientos a la par sobre esta especie. Por tanto, en el presente trabajo de investigación se analizó el efecto bioestimulador que ejerce el tratamiento con láser He-Ne y diodos emisores de luz, en la germinación de semillas y el desarrollo de plántulas de dos variedades de *Capsicum annuum* con la finalidad de contribuir al

establecimiento de procedimientos de mejoramiento y propagación eficiente de esta especie.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Clasificación taxonómica y descripción botánica de la especie *Capsicum annuum* L.

*Capsicum annuum*, es una especie vegetal conocida con el nombre común de “chile”. Su clasificación taxonómica de acuerdo a la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) (2009) es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Género: *Capsicum*

Especie: *Capsicum annuum* L.

Las especies del género *Capsicum* son plantas herbáceas o arbustivas de forma variable (Waizel y Camacho, 2011; Hernández, 2010). Las plantas de ciclo de vida anual y perenne miden hasta 1.5 m de altura; tienen un sistema radical pivotante y profundo que llega a profundidades de 70 cm, y alcanzan lateralmente una longitud entre 50 cm y 1 metro (Barceloux, 2009; Pozo y cols., 1991; Mendía, 2000). Los tallos son erectos, ramificados, de color verde oscuro y circulares a la madurez en la sección media. Pueden ser glabros o pubescentes y de crecimiento determinado o indeterminado (Valadez, 1993; Nuez y cols., 2003).

El chile es una planta con hojas planas, simples, enteras y lanceoladas, de forma ovoide alargada, de hasta 10 cm de largo y con tricomas, con un ápice pronunciado y un peciolo largo y poco aparente (CONABIO; Mendía, 2000). Generalmente desarrollan entre 8 y 15 hojas antes de la floración (Rylski, 1986). El número de estomas varía de 120-190 mm<sup>2</sup> para hojas que crecen bajo el sol y de 35-70 mm<sup>2</sup> para hojas que crecen en sombra (Schoch, 1972).

La planta de chile es monoica y autógama. Sus flores son pequeñas, de color blanco, hermafroditas y solitarias, se forman en las axilas de las ramas. Constan de un cáliz dentado, ausente o rudimentario, corola de color blanco a azul, sin manchas difusas en la base de los pétalos, pétalos usualmente rectos, anteras normalmente de color azul a violeta y filamentos cortos. Están constituidas por 5 sépalos, 5 pétalos y 5 estambres (Pozo y cols., 1991; Waizel y Camacho, 2011; D'Arcy y Eshbaugh, 1974; Mendía, 2000).

El fruto de *Capsicum annuum* es una baya hueca, con dos a cuatro lóbulos, constituida por un pericarpio grueso, succulento y un tejido placentario. De tamaño, forma y color variable (verde, rojo, amarillo, naranja, violeta o blanco; debido al contenido de carotenoides). Su característica principal, la pungencia, se debe a la presencia de capsaicinoides. Las semillas se encuentran adheridas a la planta en el centro del fruto, son numerosas, de color blanco crema, de forma circular-aplanada, lisas y con un diámetro que alcanza entre 3 y 5 mm (Mendía, 2000; Salunkhe, 2003; Nuez y cols., 2003; CONABIO).

## **2.2 Variedades de chile**

Dada la complejidad taxonómica existente en la especie *Capsicum annuum* L., resulta complicado establecer una clasificación clara y concisa que agrupe a las distintas variedades, debido principalmente a que el pimiento se caracteriza por la gran heterogeneidad del fruto existente entre las variedades utilizadas. De manera más práctica y general se pueden dividir en tres grandes grupos: pimiento dulce, pimiento picante y pimiento de industria o pimentón.

*Capsicum annuum* es la especie más ampliamente conocida y de mayor importancia económica debido a su distribución y diversidad. Dicha variedad se clasifica en tipos de acuerdo a características del fruto, como la pungencia, color, forma, sabor, tamaño y uso (Pozo, 1981; Aguilar y cols., 2010).

De los 75 tipos de chile conocidos en México, al menos se cultivan comercialmente 15: el de árbol, ancho, guajillo, jalapeño, serrano, entre otros (Laborde y Rendón, 1989).

### **2.2.1 *Capsicum annuum* var. Poblano**

El chile ancho o poblano es una de las variedades de chiles más importantes en México. Se caracteriza por presentar un fruto de forma triangular o acorazonada, con pericarpio

grueso. En estado inmaduro es similar al chile mulato, sin embargo, el chile ancho se diferencia del segundo en que madura en color rojo.

Otra característica de este tipo de chile, es la presencia de cajete pronunciado (hundimiento del pericarpio en la unión con el pedicelo). En general, sus frutos tienen un tamaño promedio de 12 cm de largo, aunque pueden llegar a 19.5 cm, y el ancho en promedio es de 6.5 cm fluctuando entre 4 y 10 cm. En corte transversal del fruto se puede ver el número de espacios llamados lóculos separados por las venas (placenta) que van desde el centro al pericarpio; de esta forma, los frutos pueden ser de dos, tres y cuatro lóculos, y se les llama frutos de dos, tres y cuatro venas, respectivamente. El chile poblano verde se utiliza en la preparación de algunos alimentos; sin embargo, la mayor parte se consume en seco como condimento (Aguilar y cols., 2010).

### 2.2.2 *Capsicum annuum* var. serrano

El chile serrano, también conocido como chile verde, es la segunda variedad más producida en México, se cultiva en 25 de los 31 estados del país. Recibe su nombre por el lugar de cultivo que son las sierras de los estados de México; Puebla e Hidalgo (Partida y Quezada, 2012).

El chile serrano es uno de los llamados “chiles verdes”, su forma es alargada, delgada y cilíndrica, su terminación suele ser en punta, miden desde 2 a más de 8 cm de longitud y hasta un centímetro de diámetro, de cáscara lisa y brillante, de poca carnosidad y la mayoría de su cuerpo está ocupado por semillas, tiene un nivel considerable de pungencia. Sus frutos maduran de verde a rojo, pero usualmente se consume en verde. Si bien es uno de los chiles más consumidos, casi toda la producción se realiza con variedades mejoradas, lo que ha ocasionado la pérdida de la diversidad en varias regiones (Aguilar y cols., 2010).

## 2.3 Distribución geográfica de *Capsicum annuum*

### 2.3.1 Distribución mundial de *C.annuum*

De todas las especies domesticadas de chile, *Capsicum annuum* es la más ampliamente distribuida. Se cultiva en los lugares templados, tropicales y subtropicales de América, Europa, Asia y África (Montes y cols., 2010).

El grupo *Capsicum annuum* está asociado con hábitats húmedos, fundamentalmente en la selva baja caducifolia, a orillas de los caminos, huertos, potreros y bajo la vegetación remanente en orillas de los campos de cultivo (Hernández y cols., 1999).

### 2.3.2 *Capsicum annuum* en México

La especie *Capsicum annuum* agrupa la mayoría de las variedades cultivadas en el país, entre las que se incluyen: ancho, serrano, jalapeño, mirasol, pasilla, mulato, etc. Es de gran importancia por su amplia distribución y cultivo, que abarca desde cerca del nivel del mar, hasta los 2500 msnm, incluyendo diferentes regiones del país, razón por la cual se encuentran estos frutos en el mercado todo el año (Montes y cols., 2010).

*Capsicum annuum* se encuentra distribuido en casi todos los estados de la República Mexicana. Con base en la información que se tiene dentro de las bases de datos del Sistema Nacional de Información de la Biodiversidad (SNIB) y de la Red Mundial de Información de la Biodiversidad (REMIB) (incluidas en la CONABIO), en 2010, Montes y cols., realizaron un mapa sobre la distribución puntual en México de esta especie (Fig. 1).



Figura 1. Mapa de distribución de *Capsicum annuum* en México.

## 2.4 Impacto e importancia del chile (*Capsicum annuum*)

El chile (*Capsicum annuum*) ha sido un fruto de gran importancia en la historia y cultura de México, ya que se ha mencionado su consumo en sus diversas variantes desde los tiempos prehispánicos y actualmente está arraigado en todos los estratos socioeconómicos del país; interviene en la dieta diaria de los mexicanos en diversas presentaciones, ya sea verde, seco, en polvo, encurtido y diversas recetas culinarias, postres y otros. Aunque es oriundo del continente americano, se ha convertido en un condimento popular en muchas partes del mundo, donde es apreciado por sus atributos de color, grado de picor y aroma, estimándose que el 25 % de la población mundial consume diariamente algún tipo de chile (Rodríguez y cols., 2003).

Sin embargo, la utilidad es versátil e incluye usos como colorante de alimentos y cosméticos, planta ornamental y religiosa, medicinal, entre otros (Melgarejo y cols., 2004).

### 2.4.1 Valor económico del cultivo de *Capsicum annuum*

Desde el punto de vista económico, la especie más importante es *Capsicum annuum* L., que es originaria de México y en ella se encuentran variedades de frutos grandes y pequeños, dulces y picantes. Esta especie ha llegado a ser la de mayor importancia a nivel mundial (Rodríguez y cols., 2003).

El continente con mayor superficie cultivada de *Capsicum* es Asia, seguido de África y Europa, en América los países con mayor superficie en este cultivo, son México y Estados Unidos. De acuerdo a Vallejo y Estrada (2004), México cultiva 39,000 ha, con una producción de 416,000 t, y un rendimiento de 10.6 t/ha; *Capsicum annuum* es importante además, por el valor que aporta a la producción agrícola de las regiones involucradas, al generar ingresos competitivos para los productores y contribuir a la creación de empleos, lo cual representa un impacto social positivo que trasciende las fronteras de México. Cifras mundiales de comercio de la FAO indican que México es el principal exportador de chile verde al extranjero (SIAP, 2011).

### 2.4.2 *Capsicum annuum* y su papel en la alimentación

El chile constituye una fuente importante de nutrimentos, ya que en promedio 148 g de chiles contienen 30 calorías, 7 g de carbohidratos, 2 g de fibra dietética, 4 g de azúcar, un

gramo de proteína; proporciona también 2 % de calcio y 2 % de hierro (Bosland y Votava, 2000).

Análisis químicos han demostrado que el chile contiene concentraciones relativamente altas de varios nutrientes esenciales, incluyendo la vitamina C (hasta seis veces más que una naranja) y provitaminas A, E, P, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, y B<sub>3</sub> (Cichewicz, 1996).

#### 2.4.3 Uso medicinal y/o farmacológico de *Capsicum annuum*

El pimiento es un vegetal conocido por su alta capacidad antioxidante. Sus atractivos colores contienen una variedad de pigmentos con participación importante en el proceso de eliminación de radicales libres e influyen en la prevención de enfermedades del metabolismo y padecimientos crónicos (Hyeon, 2008).

La capsaicina es un componente químico bien estudiado de las especies de *Capsicum*, ya se ha demostrado su alto grado de actividad biológica que afecta a los sistemas nervioso, cardiovascular y digestivo. Además, algunos ensayos clínicos han demostrado que la capsaicina puede tener un valor potencial en condiciones dolorosas como la artritis reumatoide y los dolores de cabeza. Los frutos de *Capsicum* también han sido utilizados para tratar una variedad de dolencias relacionadas por infección microbiana. Algunas evidencias señalan que la inclusión de algunas variedades de *Capsicum annuum* en los alimentos y la medicina de los mayas pueden haber ayudado a combatir infecciones ocasionadas por bacilos, mostrando además, un efecto inhibitor frente a especies de *Clostridium*. Adicionalmente, se ha mencionado el papel de gran importancia de esta especie como fuente de compuestos anti-hemolíticos e inhibidores de *Streptococcus pyogenes*. Las alteraciones inducidas por la capsaicina en el pH de células epiteliales del tracto digestivo, pueden presentar además, posibles efectos anticancerígenos (Barceloux, 2009; Melgarejo y cols., 2004; Cichewicz, 1996).

Algunos remedios herbolarios incluyen el uso de frutos de *Capsicum annuum* solos o en conjunción con las hojas, raíces, o semillas. Otros remedios incluyen instrucciones para hervir o calentar la mezcla de alguna manera antes de la administración. Estas preparaciones se aplican para una variedad de dolencias, incluyendo problemas respiratorios, problemas intestinales, dolores de oído, úlceras, heridas infectadas y quemaduras (Cichewicz, 1996).

El chile en pequeñas dosis, actúa como un poderoso estimulante y carminativo, es conocido su uso en la dispepsia y dipsomanía atónica y flatulenta; tiene efectos benéficos para las varices, la anorexia y la congestión hepática. La oleorresina de *Capsicum* se utiliza para el tratamiento de lumbago; asimismo, los extractos de carotenoides de esta planta se usan como anti-inflamatorios (Daniel, 2006).

## **2.5 Morfología y estructura de la semilla**

### 2.5.1 Definición de semilla

La semilla es el medio de reproducción sexual de las plantas espermatofitas, gimnospermas y angiospermas y se define en un sentido botánico estricto, como un óvulo fecundado, independientemente de la planta madre, que ha madurado hasta adquirir la diferenciación y capacidad fisiológica para originar un nuevo individuo. La formación de la semilla es esencial para la supervivencia de las especies de plantas que no se pueden propagar vegetativamente (Camacho, 1994; Valencia y Jiménez, 2014).

### 2.5.2 Partes que constituyen una semilla

Desde el punto de vista genético, la semilla consta de tres componentes: 1) un embrión proveniente de un cigoto, 2) un endospermo triploide formado por fusión de dos núcleos polares con el segundo núcleo espermático, y 3) una cubierta seminal formada por los tegumentos provenientes del óvulo (Desai y cols., 1997).

La mayor parte del volumen de la semilla es ocupado por el endospermo y el embrión, ya que la cubierta seminal suele ser pequeña en la mayoría de las especies. En la cubierta seminal, el micrópilo puede presentarse como un poro cerrado o bien puede estar obliterado; el hilio o *hilium* es la cicatriz que deja el funículo cuando se separa del ovulo para la abscisión (Esau, 1987; Martínez y Fragoso, 2014).

La semilla consta de reservas nutritivas necesarias para mantener vivo al embrión y durante la germinación, reanudar el crecimiento hasta el momento en que sus primeras hojas puedan fotosintetizar (Esau, 1987; Vázquez, 1999). Los compuestos específicos acumulados por las semillas se agrupan generalmente en carbohidratos, lípidos, proteínas y fitatos (Taiz y Zeiger, 2010). Sus reservas nutritivas pueden encontrarse en el endospermo, perispermo o cotiledones, según la especie (Desai y cols., 1997; Mauseth, 2003).

La formación y adquisición de estos componentes de las semillas se pueden dividir en tres fases: histodiferenciación, acumulación de reservas y adquisición de tolerancia a la desecación (Taiz y Zeiger, 2010). La madurez fisiológica es la etapa del desarrollo de la semilla en la que alcanza su máximo peso seco, que corresponde con el fin del periodo de acumulación, y también es cuando ocurre la máxima germinación y vigor (Bewley y cols., 2013).

### 2.5.3 Proceso de germinación

La germinación de semillas es un mecanismo en el que las alteraciones morfológicas y fisiológicas resultan en la activación del embrión (Hermann y cols., 2007).

Los procesos fisiológicos de crecimiento exigen actividades metabólicas aceleradas y en el caso de la germinación es el aumento de la actividad respiratoria de la semilla. Por tal motivo, el embrión requiere nutrientes suficientes que obtiene por medio de la movilización de las reservas alimenticias contenidas en el endospermo, para atender el aumento en la actividad metabólica (Palacios, 2000).

La germinación inicia con la imbibición y finaliza con el inicio del alargamiento de la radícula. Se considera que una semilla ha germinado cuando la radícula protruye a través de la cubierta seminal. Por lo tanto, incluye numerosos eventos como hidratación de proteínas, cambios de estructuras subcelulares, respiración, síntesis de macromoléculas y alargamiento de células; procesos que, combinados, conducen a un metabolismo vigoroso para el crecimiento de la plántula (Hermann y cols., 2007).

De acuerdo a Bosland y Votava (2000), sobre la germinación de semillas de chile inciden diversos factores, destacando los requerimientos de humedad (50-70 %) y aireación, así como un régimen térmico entre 20 y 30 °C.

## 2.6 Tratamientos pre-germinativos

El fenómeno de latencia es común, principalmente en semillas de determinadas hortalizas y forrajeras, algunas frutícolas, especies arbóreas y ornamentales, que no germinan después de la cosecha debido a los mecanismos internos de naturaleza física o fisiológica, que bloquean la germinación. En algunas especies, el bloqueo a la germinación se establece luego de la dispersión de la semilla, inducido por ciertas condiciones de estrés o por un ambiente desfavorable a la germinación.

Las semillas durmientes (en periodo de latencia) son aquéllas que más allá de que estén vivas y sobre condiciones de ambiente que normalmente favorecen el proceso de germinación, no germinan por causa de alguna restricción interna, la cual impide el desarrollo del embrión. La germinación solamente ocurrirá cuando tal restricción sea superada, lo que en la naturaleza puede llevar días, meses o años, dependiendo de la especie (Mérola y Díaz, 2012).

De las técnicas y tratamientos más empleadas para superar este periodo pueden citarse los siguientes: pre-enfriamiento (refrigeración), distintas combinaciones de temperaturas, solución de nitrato de potasio al 0,2 %, ácido giberélico, pre-lavado y pre-secado, ácido sulfúrico, entre otros (Farias y cols., 1996; Hernández y cols., 2016).

#### 2.6.1 Métodos químicos

Estos métodos tratan de debilitar la cubierta seminal, testa o cáscara de la semilla mediante la escarificación. La escarificación es un tratamiento mediante el cual se logra que la cubierta seminal se haga permeable al agua y/o a los gases.

En la naturaleza las cubiertas duras de las semillas se ablandan por medio de diversos agentes del ambiente, tales como abrasión mecánica, congelamiento y deshielo alternados, ataque por microorganismos del suelo, paso por el tracto digestivo de aves y mamíferos, desgaste por el fuego, sol y agua (Mérola y Díaz, 2012). Artificialmente la escarificación puede llevarse a cabo con los siguientes tratamientos:

##### a) Escarificación química:

Es un método con alta eficacia para interrumpir el reposo, si se sumergen las semillas en ácidos fuertes, disolventes orgánicos e incluso agua hirviendo.

##### b) Ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) concentrado:

Es el método químico más utilizado en semillas de especies forrajeras tropicales, porque disuelve, agrieta y debilita las cubiertas seminales, lo cual permite la entrada de agua e intercambio de gases, facilita la expansión del embrión y la salida de la radícula (Zulay, 1996).

c) Agua, alcohol etílico y acetona:

Permiten desechar los inhibidores que bloquean al metabolismo en las semillas, aumentando significativamente el porcentaje de germinación (Salinas y Molina, 1996).

d) Aplicación de los estimulantes químicos:

Rompen la dormancia o latencia de las semillas destruyendo los efectos de algunos inhibidores. Con este fin el más utilizado es el ácido giberélico (Mérola y Díaz, 2012; Mandujano y *co/s.*, 2007).

## 2.6.2 Métodos físicos

La aplicación de métodos físicos con sus diversas variantes, ha proporcionado resultados excelentes para solucionar los problemas prácticos de inducción de la respuesta germinativa de semillas. Se considera que estos tratamientos, cambian la viscosidad del protoplasma de las células del embrión, modificando sus características físicas y químicas. Los métodos físicos para el mejoramiento de la germinación de semillas incluyen:

a) Temperaturas alternas

Algunos estudios, por ejemplo el desarrollado por Cabello y *co/s.* (2002), han establecido que la temperatura tiene un efecto significativo sobre el porcentaje y la velocidad de germinación. El calentamiento moderado de las semillas "duras" bajo el régimen de temperatura, acelera su germinación. Este tratamiento rompe la impermeabilidad del hilio, parecido a lo que sucede cuando la semilla se golpea contra una superficie sólida.

b) Agua hirviendo

Uno de los métodos bien conocidos de liberar la semilla del estado de latencia es tratarla con agua hirviendo, aumentando su germinación bruscamente (Mérola y Díaz, 2012).

c) Temperaturas bajas extremas

Existen datos que las temperaturas bajas de -50 hasta -90°C pueden eliminar la latencia de las semillas de las leguminosas (Mérola y Díaz, 2012). En climas templados, la combinación de temperaturas bajas y alta humedad, pueden poner en marcha cambios bioquímicos que interrumpen la latencia de la semilla, y hacen que se inicie el

metabolismo, comience el crecimiento del embrión, y consiguientemente se produzca la germinación (William, 1991).

#### d) Luz

La luz no influye en la germinación de muchas especies, pero en otras, este fenómeno está controlado por la presencia o ausencia de ella (Orozco, 1999; Reyes y Rodríguez, 2005).

### **2.7 Tratamiento pre-germinativo con láser**

La luz es el atributo más importante del ambiente natural para la vida. La sensibilidad de las plantas a la luz es bien conocida. La luz es una condición necesaria para la fotosíntesis, proceso más importante en la vida de plantas. El sensor en las plantas para la luz es la clorofila. Las plantas son sensibles a la intensidad de la luz, su composición espectral y de alternancia de periodos de luz y oscuridad. El láser (amplificación de luz por emisión estimulada de radiación), es una fuente de luz específica; la luz que emite se caracteriza por su alto grado de coherencia espacial, temporal y su monocromaticidad, inalcanzables utilizando otras tecnologías (Aladjadjian, 2012).

En la agricultura se han utilizado diferentes tipos de láseres. Los láseres se pueden clasificar de acuerdo con diferentes criterios: según el estado de la materia del medio activo pueden ser sólidos, líquidos o gaseosos. Su emisión también se diferencia de acuerdo al rango espectral de la longitud de onda del láser: infrarrojos, luz visible, luz ultravioleta o rayos X. Un láser también puede ser clasificado por su modo de operación; continuo y pulsado, o por el método de excitación del medio activo; óptico, eléctrico, térmico o químico (Bachs y *co/s.*, 1988; Aladjadjian, 2012).

Son muchas las líneas de investigación que han favorecido los avances de la tecnología láser. Una revisión detallada de la utilización de tratamiento con láser para la estimulación vegetal ha sido publicada por Hernández y *co/s.*, 2010. En dicho estudio se subraya que la luz láser se utiliza en la agricultura para la bioestimulación de semillas, plántulas y plantas sobre la base de la sinergia entre el rayo láser monocromático polarizado y los fotorreceptores de absorción de la misma, que activan numerosas reacciones biológicas. En la horticultura, el efecto del tratamiento con láser depende no sólo de la longitud de onda de su emisión, sino también de la potencia de salida y el tiempo de exposición del láser. Las potencias de salida investigadas varían en gran escala; entre 200 kW (Govil y

cols., 1991) y 5 mW (Grygierzec, 2008). Los tiempos de exposición también varían en gran medida, 30 s utilizados por Michtchenko y Hernández (2010) y 120 minutos en la obra de Khalifa y El Ghandoor de 2011.

### 2.7.1 Láser He-Ne

El láser He-Ne construido en 1961 por Ali Javan, fue el primer láser de gas en funcionar y producir un haz de salida continuo, que actúa o tiene un mayor efecto en una longitud de onda de 1152,27 nm (infrarrojo cercano). El láser Helio-Neón era el láser más común hasta la extensión de los láseres de diodo en los últimos años. El medio activo es una mezcla gaseosa de Helio-Neón, en proporción aproximada de 10:1, contenida en un tubo de cuarzo cerrado. Se crea una descarga brillante en el gas mediante la aplicación de un alto voltaje de entre 1 y 10 000 volts entre un par de electrodos insertados en extremos opuestos del tubo. Una vez encendido, para mantener la descarga basta una corriente directa estable típicamente de entre 3 a 10 mA. La corriente eléctrica que fluye produce excitación de los átomos de helio debido a colisiones con los electrones energizados. A su vez, los átomos excitados de He transfieren parte de esta energía mediante colisiones atómicas a los átomos de Ne, con lo que éstos son elevados a sus niveles de excitación superiores. En este nivel se establece una inversión de población y puede llevarse a cabo el efecto láser a una longitud de onda de 632.8 nm. Es importante observar que los átomos de He proporcionan el medio para excitar los átomos de Ne; el efecto láser se lleva a cabo en los niveles del Ne. Generalmente estos láseres operan a una longitud de onda de 632.8 nm y las potencias típicas de salida son de 1 a 50 mW de potencia continua (Garret, 1967; Galicia y López, 2011).

La mejora de plantas mediante la aplicación de factores físicos, como el tratamiento pre-germinativo del láser He-Ne, constituye una técnica no invasiva, es decir, tienen la ventaja de no modificar la composición de las plantas, además de inducir la germinación y mejorar favorablemente el crecimiento y desarrollo de las mismas (Barbanti y cols., 2007; Perveen y cols., 2010), tal como lo mencionan Amina y cols. (2010) en semillas de haba, Srećković y cols. (2014) en semillas de maíz y trigo y Lobna y cols. (2014) en *Sequoia sempervirens*. El tratamiento con láser de Helio-Neón ha tenido una aplicación amplia (Aladjadjyan 2007), probablemente debido a su costo relativamente bajo y la coherencia de sus emisiones.

### 2.7.2 Especies vegetales irradiadas con láser He-Ne como tratamiento pre-germinativo

Los resultados de diversas investigaciones confirman que el tratamiento pre-germinativo con láser He-Ne tiene efectos positivos sobre la germinación, por ejemplo, Soliman y Harith (2010) demostraron que la irradiación con láser de He-Ne ( $1,70 \text{ W cm}^{-2}$ ) durante 9 minutos incrementa el índice de germinación de *Acacia farnesiana*; González y cols. (2008) obtienen resultados similares y proponen el índice de velocidad de germinación como un parámetro dependiente de los tiempos de irradiación; Chen y cols. (2011) mencionan una estimulación positiva en la germinación de *Brassica oleracea*.

Se ha estudiado la viabilidad de semillas de trigo (Zhang y cols., 2011) y maíz (Wu y An, 2002) de periodos largos de almacenamiento después de ser irradiadas por láser He-Ne de diferentes dosis, mostrando resultados positivos para el potencial de germinación, longitud del brote y aumento de la altura de las plántulas. También se ha demostrado el papel del láser He-Ne en la reparación del daño inducido por rayos UV en semillas de trigo (Chen y Han, 2015).

El tratamiento con láser He-Ne combinado con otras variables ambientales tiene también un efecto benéfico sobre el desarrollo de plántulas. Por ejemplo, de acuerdo a Cepero y cols. (2002), la interacción entre los factores humedad y tiempo de exposición de las semillas a la radiación láser produce un efecto positivo en el crecimiento de *Albizia lebeck*. Por otro lado, Cholakov y cols., (1997), al emplear este tipo de irradiación en semillas de pepino, observaron un incremento en la síntesis de productos y pigmentos fotosintéticos en las hojas de esta especie.

## 2.8 Crecimiento y morfogénesis de plantas

De acuerdo con Mauseth (2003), las plantas tienen sistemas compuestos por órganos, los cuales a su vez, están conformados por diferentes tejidos simples o complejos. En las plantas se reconocen dos sistemas de órganos:

- a) El sistema radical, que es la parte que típicamente se encuentra debajo de la tierra; compuesto por los órganos llamados raíces.
- b) El sistema de vástago es la parte ubicada generalmente encima de la tierra; compuesto principalmente por los tallos, hojas y yemas (Figura 2).

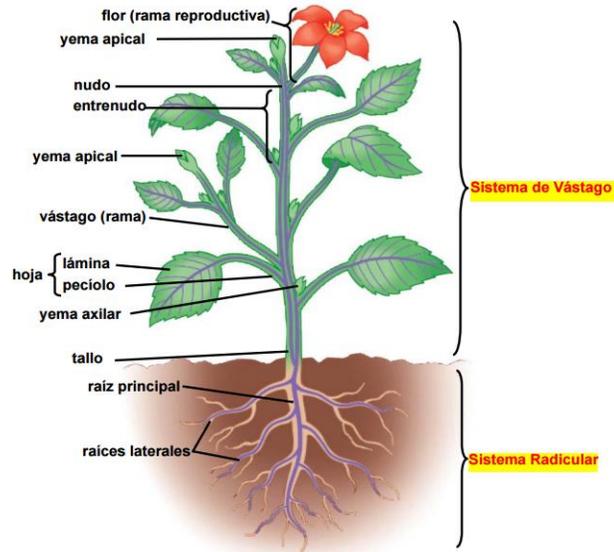


Figura 2. Esquema de la morfología de una planta con flor

### Sistema de órganos

Las raíces son órganos multicelulares con funciones de anclaje de la planta, absorción de agua y minerales y almacenamiento de nutrientes. De la raíz principal surgen las raíces laterales.

El tallo es un órgano para el soporte de los demás órganos del vástago. La estructura del tallo incluye: nudos (estructuras de las cuales surgen hojas y/o ramas vegetativas o reproductivas); y los entrenudos, que son segmentos de tallo entre los nudos sucesivos.

La hoja es el principal órgano fotosintético en la mayor parte de las plantas vasculares. Generalmente tiene una porción plana que se denomina lámina y un pecíolo, que une la lámina al tallo. La yema axilar sirve para determinar si la hoja es simple o compuesta.

Las yemas son órganos para crecimiento longitudinal. Las plantas tienen yemas de dos tipos: apicales, que causan el alargamiento de la rama las axilares, que dan origen a ramas laterales nuevas.

El fruto protege las semillas y las ayuda a dispersarse. Los frutos pueden clasificarse en dos categorías principales: secos, si el ovario se seca cuando está maduro o carnosos, si el ovario es grueso y suave cuando está maduro (Mauseth, 2003).

## Sistemas de Tejidos

Conforme a Campbell y Reece (2007), en las plantas se reconocen tres sistemas de tejidos:

- a) Sistema de tejidos dermales: tienen la función de protección, soporte, secreción y regulación de intercambio de gases. El sistema de tejidos dermales está constituido por la epidermis e hipodermis.
- b) Sistema de tejidos vasculares: transportan materiales entre raíces y tallos. Está formado por xilema, que transporta agua y minerales de las raíces hacia los tallos y hojas y el floema, que transporta los productos de la fotosíntesis desde donde se producen hasta donde se requieran o se vayan a almacenar.
- c) Sistema de tejidos basales o fundamentales: incluye a los tejidos de reserva (parénquima) y de soporte o sostén en la planta (colénquima y esclerénquima).

### Organización de tejidos en tallos

En las monocotiledóneas, el tejido vascular está formado por numerosos haces vasculares discretos (venas), dispersos a través del tejido fundamental. En las eudicotiledóneas, el tejido vascular forma un anillo, formado por haces vasculares, separados por regiones estrechas de tejido fundamental.

### Organización de tejidos en las hojas

En la hoja se reconoce una epidermis superior y una inferior. La epidermis está interrumpida por los estomas, estructuras que permiten el intercambio de gases para la fotosíntesis y respiración celular. Cada estoma incluye dos células oclusivas, que regulan la apertura y cierre del mismo. El tejido fundamental de la hoja se llama mesófilo. Una parte del mesófilo se denomina mesófilo de empalizada y se especializa en la captación de luz solar para llevar a cabo la fotosíntesis, mientras que la porción denominada mesófilo esponjoso, está especializado en el intercambio de gases. El tejido vascular forma las “venas” o nervaduras en las hojas (Campbell y Reece, 2007).

## **2.9 La luz y la fotosíntesis**

La luz es la fuente primaria de energía para la vida sobre la Tierra. La biosfera en la que vivimos es un sistema cerrado y en equilibrio dinámico constante. Ser sistema cerrado significa termodinámicamente que no intercambia materia con el exterior, pero sí recibe

energía. Esta energía es esencial para la dinámica tanto geológica como biológica del planeta, que alberga a los organismos vivos. El Sol es el astro del que recibimos prácticamente la totalidad de esa energía. La radiación solar que llega a la Tierra abarca una amplia franja del espectro radiactivo electromagnético y dentro de ella, una parte significativa (aproximadamente un 40 %) es la radiación luminosa, normalmente llamada luz.

La luz es un conjunto de ondas electromagnéticas. La radiación luminosa ocupa una pequeña franja del espectro, que va desde los 400 a los 700 nm, y se sitúa entre las radiaciones ultravioletas (UV) y las infrarrojas (IR) y constituye la llamada radiación fotosintéticamente activa (PAR). La radiación luminosa también se llama radiación visible (VIS) porque el ojo humano es un órgano sensible foto-detector que nos permite ver esa radiación; está constituida por la conjunción de las radiaciones luminosas de color violeta, azul, verde, amarillo, anaranjado y rojo.

Mediante un único y complejo proceso fisiológico denominado fotosíntesis, determinados organismos vivos autótrofos, también llamados fotoergónicos o fotosintéticos, son capaces de absorber y utilizar la energía luminosa. Cualquier fuente de luz visible es utilizada por los organismos fotosintéticos para llevar a cabo el proceso de fotosíntesis, proceso característico de los organismos vegetales, que determina en buena parte los rasgos característicos de la estructura y la fisiología de éstos (De las Rivas, 2013).

### 2.9.1 La luz como factor regulador de crecimiento vegetal

La luz puede afectar al crecimiento y desarrollo de las plantas como fuente de energía mediante la fotosíntesis, como fuente de calor y como fuente de información. La cantidad de luz (fotones) que incide sobre los organismos vegetales por unidad de tiempo y de superficie (irradiancia), su composición espectral, la dirección en que incide y su duración diaria (fotoperiodo) son aspectos del ambiente luminoso que cambian en condiciones naturales y proporcionan información sobre una serie de condiciones (época del año, presencia de plantas vecinas, etc.).

Las plantas poseen fotorreceptores que les permiten utilizar dicha información. Estas moléculas cambian su estado en función del ambiente luminoso y como consecuencia de ello, modulan distintos aspectos del crecimiento y el desarrollo. En sentido estricto, la

fotomorfogénesis se define como los efectos de la información proporcionada por los cambios en la cantidad o la composición espectral de la luz.

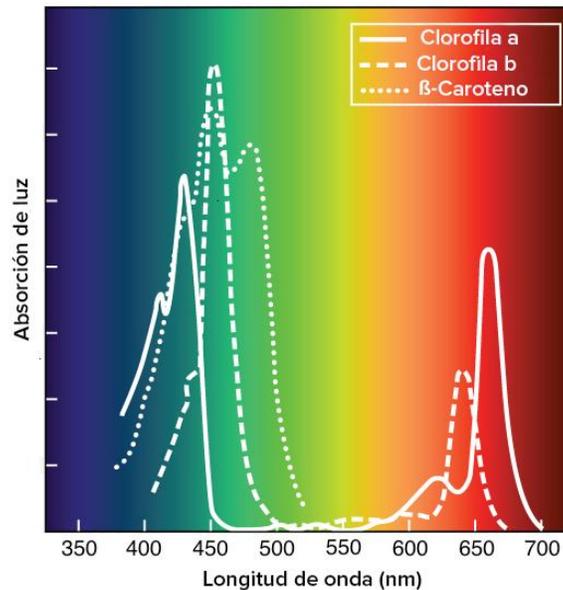


Figura 3. Espectro de absorción de los pigmentos fotosintéticos

Los fotorreceptores son moléculas proteicas con capacidad para absorber luz gracias a que poseen uno o más cromóforos (Fig. 3). En las plantas se han identificado varias familias de fotorreceptores. Los fitocromos, son fotorreceptores de luz roja (600-700nm) y roja lejana (700-800 nm). Los criptocromos son fotorreceptores de luz azul (400-500 nm) y ultravioleta A (320-400 nm). Las fototropinas, son otro grupo de fotorreceptores de luz azul y UV-A; y el más recientemente caracterizado UVR8 (Tilbrook y *co/s.*, 2013), fotorreceptor de luz ultravioleta B (280-320 nm).

Los fitocromos son una familia de fotorreceptores codificados por genes divergentes. Se considera que el fitocromo A y el fitocromo B, promueven la germinación de las semillas al ser expuestas a la luz, incrementan la actividad de enzimas que degradan polisacáridos (mananos) de la pared celular en la porción micropilar del endospermo, lo que determina su ablandamiento y, además, aumenta la capacidad de crecimiento del embrión. Así, la morfología de las plantas resulta afectada por el nivel de irradiancia. Los criptocromos cooperan con los fitocromos, en algunas de estas respuestas (Casal, 2013).

## 2.9.2 Efecto de los diodos emisores de luz (LEDs) sobre las plantas

La fuente de luz que se utiliza generalmente para el cultivo *in vitro* es la iluminación artificial; una amplia variedad de luces artificiales se han utilizado en la horticultura, incluyendo incandescente, fluorescente y descarga de alta intensidad (HID). La iluminación incandescente es típicamente alta en las longitudes de onda roja e infrarroja lo que produce un alto calor radiante. Las luces fluorescentes producen más luz blanca pero los aparatos deben estar situados muy cerca del cultivo. Las luces de descarga de alta intensidad son eficientes, pero debido a la gran cantidad de energía eléctrica requerida es económicamente impracticable. Además, estas fuentes contienen longitudes de onda innecesarias y de baja calidad para promover el crecimiento (Landis y cols., 2013).

En comparación con esas lámparas tradicionales, las características mejoradas de los diodos emisores de luz (LEDs) incluyen vida larga, alta eficiencia, tamaño pequeño, menor radiación térmica, así como un mayor rendimiento energético (Bula y cols., 1991; Schuerger y Brown 1997; Steigerwald, 2002). Un diodo emisor de luz (LED), es un semiconductor de estado sólido, capaz de convertir la energía eléctrica en luz visible y coincidir con la mayoría de los receptores de la fotosíntesis de las plantas.

Ha habido varios estudios sobre el efecto de la calidad espectral mediante la aplicación de un sistema de LED a una variedad de plantas hortícolas. Saebo y cols. (1995), por ejemplo, establecieron el importante papel de la luz roja en la acumulación de almidón a través de la fotosíntesis, mientras Senger (1982), destacó el papel de la luz azul en el desarrollo del cloroplasto, la formación de clorofila y la apertura de los estomas. La investigación también se ha hecho con respecto al efecto de la luz azul para promover el crecimiento de las plántulas de lechuga y el efecto de la luz roja y azul en la fotomorfogénesis del trigo y el crecimiento de las plántulas de *Cymbidium* sp. (Goins y cols., 1997; Tanaka y cols., 1998).

Se han obtenido resultados importantes en el cultivo de algunas especies vegetales con ayuda de la radiación de luz LED; entre estas especies se incluye: la lechuga (Hoenecke y cols., 1992; Okamoto y cols., 1996), pimiento (Brown, y cols., 1995), trigo (Goins y cols., 1997 y Tripathy; Brown, 1995), espinaca (Yanagi y Okamoto, 1997; Yanagi y cols., 1996) y plátano (Duong y cols., 2002).

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el género *Capsicum*, la especie *Capsicum annuum* es la de mayor importancia económica (SIAP, 2011). El chile, como comúnmente se denomina a la planta y particularmente a su fruto, es ampliamente apreciado ya que su consumo se ha relacionado con beneficios a la salud por sus efectos medicinales, algunas de sus variedades, como son poblano y serrano, constituyen un recurso alimenticio valioso en nuestro país (Howard, 2011).

En los últimos años, en México, se ha registrado una disminución en la superficie cosechada de chile poblano y serrano (SIAP, 2011). En los cultivos de *Capsicum annuum*, los porcentajes bajos de germinación se asocian con la presencia de una testa dura, cerosa y un contenido alto de ácido absícico en semillas maduras (Petruzzelli y cols. 2003). Esto sumado a ciertas condiciones ecológicas, constituye un factor limitante de la germinación de semillas (Tewksbury y cols. 1999; Rodríguez y cols. 2005; Oyama y cols. 2006) y por tanto, provoca una disminución en la producción de este recurso vegetal.

#### 4. JUSTIFICACIÓN

La tendencia actual en la agricultura es encontrar alternativas que garanticen el incremento en el rendimiento y disminuyan o eliminen el uso de sustancias químicas, ya que éstas implican un riesgo elevado de contaminación ambiental (Álvarez y cols., 2011). En este sentido, los métodos físicos bioestimulantes de la germinación de semillas y crecimiento de plántulas constituyen una alternativa viable para incrementar los rendimientos en la producción de *Capsicum annuum*, al favorecer el crecimiento y morfogénesis en las primeras etapas de vida y el desarrollo de la planta.

La luz láser se ha utilizado en la agricultura por su efecto bioestimulador de semillas y plantas, siendo el láser He-Ne el más utilizado, debido a su eficacia y costo relativamente bajo (Aladjadjyan, 2012). Por otra parte, la iluminación de estado sólido basado en diodos emisores de luz (LEDs) también está siendo implementada en las estrategias para controlar las respuestas fisiológicas en vegetales (Urbonaviciute y cols., 2007). Sin embargo, las aplicaciones agrícolas de la iluminación basada en LED son todavía limitadas.

Con base en lo anterior, en el presente proyecto, se evaluó el efecto del tratamiento pre-germinativo de irradiación láser He-Ne y la aplicación de diodos emisores de luz (LEDs) sobre la germinación de semillas y el desarrollo de plántulas, así como su influencia probable en el desarrollo de los caracteres morfo-anatómicos y fisiológicos de las mismas, en dos variedades de *Capsicum annuum*.

## **5. HIPÓTESIS**

Los tratamientos con irradiación láser He-Ne y diodos emisores de luz (LEDs) inducen una respuesta germinativa óptima de las semillas de *Capsicum annuum* var. poblano y serrano, potenciando además, los procesos morfogénéticos y fisiológicos del crecimiento y desarrollo de las plántulas.

## **6. OBJETIVOS**

### **6.1 Objetivo General**

Evaluar el efecto bioestimulador que ejerce el tratamiento con láser He-Ne y diodos emisores de luz (LEDs), sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos variedades de *Capsicum annuum* (Solanaceae).

### **6.2 Objetivos Particulares**

- I. Analizar la actividad bioestimuladora de la irradiación láser He-Ne como tratamiento pre-germinativo de las semillas de dos variedades de *Capsicum annuum*.
- II. Examinar los efectos de la luz LED de diferentes longitudes de onda en la germinación y el desarrollo de plántulas de *Capsicum annuum* en dos de sus variedades.
- III. Determinar el efecto de la irradiación con láser He-Ne y LEDs sobre algunos parámetros morfo-anatómicos y fisiológicos durante el crecimiento y desarrollo temprano de las plántulas de *Capsicum annuum* var. poblano y serrano.

## 7. DISEÑO METODOLÓGICO Y EXPERIMENTAL

### 7.1 Obtención del material

Las semillas se recolectaron a partir de los frutos maduros de *Capsicum annuum*, var. poblano y serrano que se obtuvieron comercialmente.

Los chiles se lavaron y cortaron a la mitad para la extracción de las semillas. Una vez extraídas, las semillas se observaron bajo el estereomicroscopio para seleccionar aquellas completas. Las semillas viables se separaron en grupos de 50 semillas.

#### 7.1.1 Caracterización morfológica de la semilla

Se tomó una muestra de 50 semillas de un lote de 600 por cada variedad, para medir las características morfológicas de cada semilla antes de iniciar los tratamientos. Las variables medidas fueron longitud, ancho, grosor, peso individual e índice de redondez.

### 7.2 Tratamiento pre-germinativo *in vitro*

#### 7.2.1 Irradiación láser He-Ne

Para el tratamiento de las semillas se empleó un láser de He-Ne con 10 mW de potencia, una longitud de onda de 632.8 nm, mancha de luz de aproximadamente 3.8 cm<sup>2</sup> y densidad de potencia de 2.63 mW/cm<sup>2</sup>. Las semillas se irradiaron durante períodos de exposición de 30, 60 y 120 segundos seleccionados a partir de un estudio de fotosensibilidad y se utilizaron semillas no irradiadas como control y 3 repeticiones de 50 semillas por cada tratamiento. El arreglo del láser se muestra en la Figura 4.

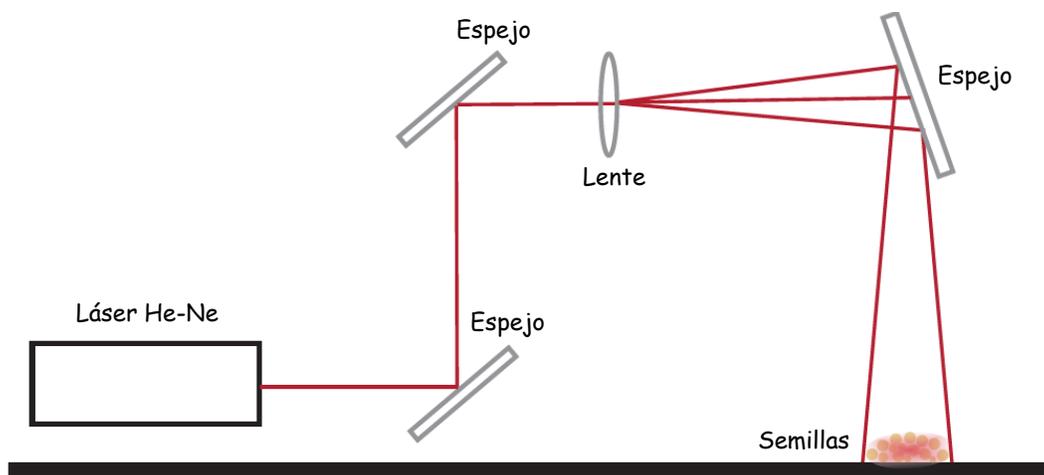


Figura 4. Arreglo del láser He-Ne para la irradiación de las semillas.

El dispositivo láser He-Ne (JDS Uniphase Model 1135P) que se utilizó para el tratamiento de irradiación de las semillas, se encuentra en el Laboratorio de Aplicaciones de Láseres del Centro de Investigaciones en Óptica (CIO) Unidad Aguascalientes (Figura 5).



Figura 5. Dispositivo láser He-Ne para el tratamiento de irradiación de las semillas.

### 7.2.2 Diodos emisores de luz LED

Después de irradiadas, las semillas se desinfectaron con cloro comercial al 10 % y se enjuagaron varias veces con agua destilada hasta eliminar el exceso de cloro. Terminado el lavado, las semillas se sumergieron en captan al 5 % por 15 minutos (Cano, 2013), con la finalidad de reducir el riesgo de contaminación por hongos. Finalizada la etapa de desinfección, las semillas se colocaron sobre papel filtro en cajas Petri estériles de plástico, una vez acomodadas se agregó suficiente agua destilada, se tapó y selló la caja con parafilm. La distribución de las semillas en las placas fue al azar.

Enseguida, las semillas se sometieron a un tratamiento de luces LEDs; luz azul ( $78 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), luz roja ( $40 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) y luz blanca ( $98 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), además del control (luz fluorescente;  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), con un fotoperiodo de 11 h de luz y 13 h de oscuridad. Las semillas estuvieron en las cámaras hasta su germinación o cumplidos los 30 días (periodo límite establecido para registrar el proceso de germinación de semillas viables). La temperatura y humedad relativa se registraron con un higrotermógrafo portátil CONTROL COMPANY.

### 7.2.3 Variables a evaluar del tratamiento pre-germinativo *in vitro*

Cada tercer día se revisaron las cajas Petri para observar el avance en el proceso de germinación. Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de germinación (PG), como una relación entre el número de semillas germinadas y el número de semillas sembradas

(Prado y cols., 2015), así como el Índice de velocidad de germinación (IVG) (Vadillo y cols., 2004), donde:

$$IVG = \sum (n_i/t_i)$$

$n_i$  = Número de semillas germinadas en el  $i$ -ésimo día;

$t_i$  = Tiempo en días, para la germinación en el  $i$ -ésimo día.

### 7.3 Tratamiento con luz LED en el crecimiento de plántulas en sustrato orgánico

Antes de continuar con el tratamiento *ex vitro* se midieron algunas variables morfológicas de crecimiento de las plántulas; para ello, se tomó una muestra representativa ( $n= 15$ ) por cada tratamiento, para medir la altura total de la plántula, longitud de la raíz principal, diámetro del tallo, longitud del hipocótilo, anchura y longitud de cotiledones, o en caso de haber emergido anchura y longitud de hojas; y peso fresco de la plántula (Álvarez y cols., 2013; Hernández y cols., 2015).

Al finalizar la medición, las plántulas se sembraron en semilleros de plástico de 27 x 53 cm, con 98 cavidades de 4 cm de profundidad. Como materia orgánica, se utilizó un sustrato de cultivo multiusos (PRO-MIX), el cual contiene una combinación de musgo de turba de *Sphagnum* canadiense (80-90 %), perlita, piedra caliza (para ajuste de pH) y agente humectante. Las plántulas en los semilleros se sometieron de nuevo a los tratamientos de luz LED azul, roja y blanca, además del control con luz fluorescente. El fotoperiodo fue de 11 h de luz y 13 h de oscuridad por 30 días (Liu y cols., 2011).

Para los experimentos de germinación y crecimiento, se utilizaron LEDs blancos, LEDs azules, LEDs rojos (SMD 5050, HR16; JACH Iluminación, México) y luz fluorescente (F-7EM; VOLTECH, México). Seis focos con LED blancos, azules, rojos y luz fluorescente se colocaron en cámaras de germinación de 60 x 30 x 25 cm (Fig. 6); y 15 focos con LED blancos, azules, rojos y luz fluorescente se colocaron en anaqueles de 85 x 60 x 30 cm para su crecimiento (Fig. 7). La distribución espectral de cada uno de los tratamientos de luz (Fig. 8), se midió con un espectroradiómetro SIM-2 Plus METRUE, a 16.5 cm dentro de las cámaras y a 27.5 cm en los anaqueles, distancias correspondientes entre el foco y la muestra (semilla o plántula).

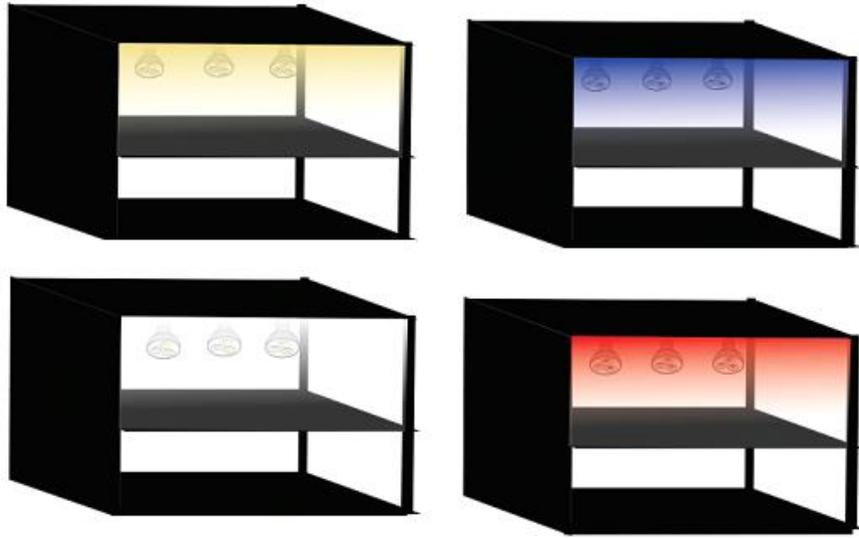


Figura 6. Esquema de las cámaras con instalaciones de focos LEDs para el tratamiento de las semillas.

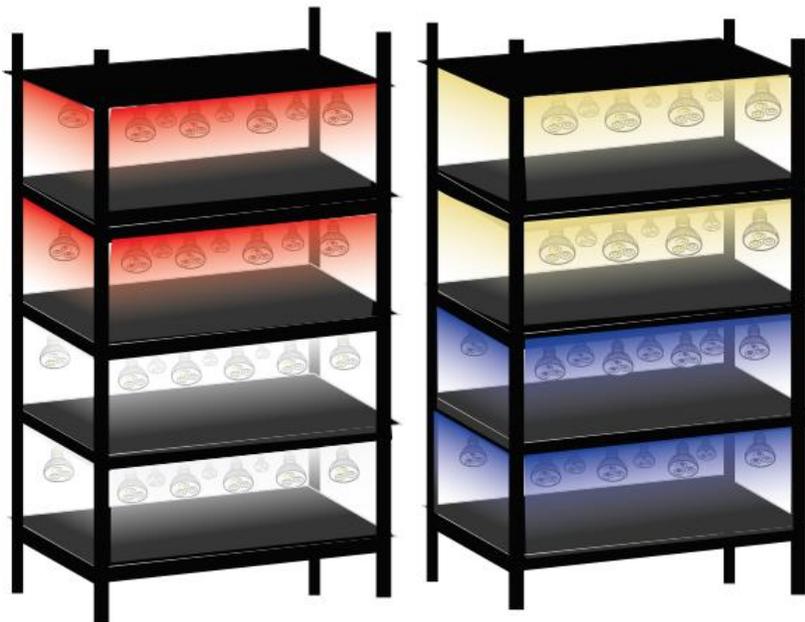


Figura 7. Esquema de los anaqueles con instalaciones eléctricas y focos LEDs para el tratamiento de las plántulas.

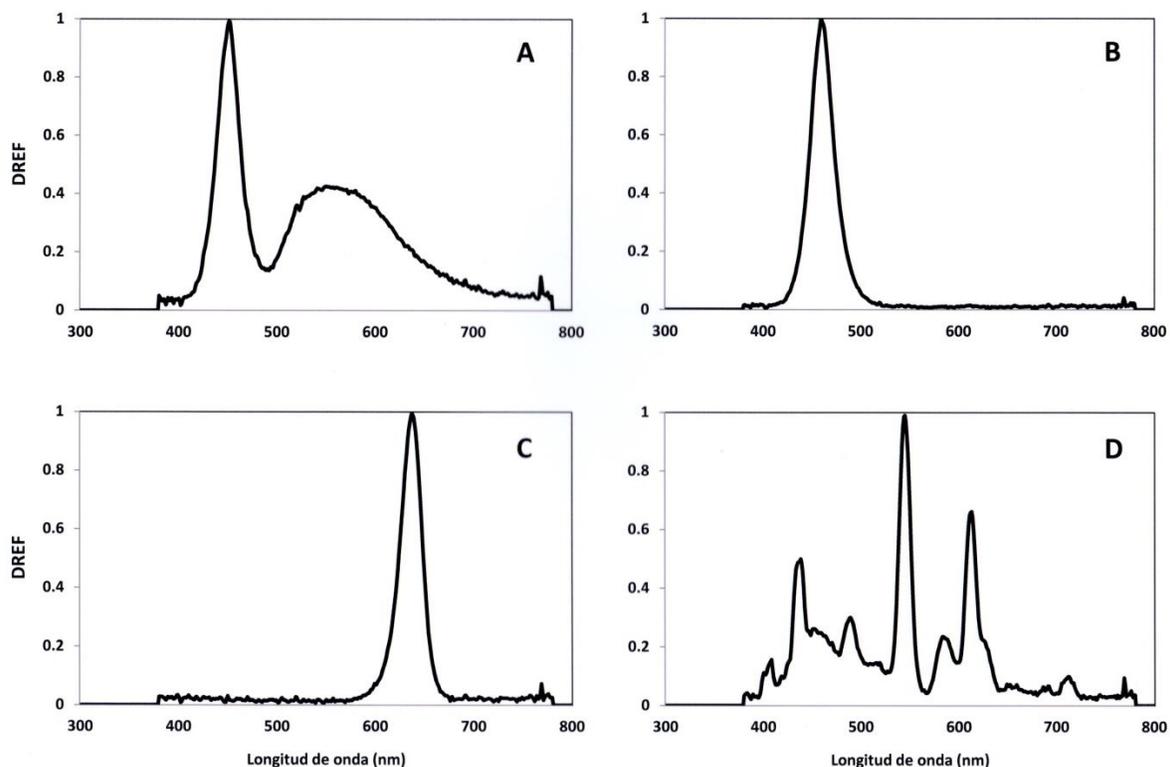


Figura 8. Distribución relativa de la densidad espectral de flujo de fotones (DREF) de los tratamientos de luz; LED blanca (A), LED azul (B), LED roja (C) y fluorescente (D).

### 7.3.1 Variables a evaluar del tratamiento con luz LED en el crecimiento de plántulas en sustrato orgánico

Transcurridos los 30 días desde la siembra de las plántulas en semilleros, se registraron y evaluaron algunas de las características de las plántulas en desarrollo:

#### 7.3.1.1 Variables morfológicas de crecimiento

Se tomó el mismo modelo (n=15) de las plántulas evaluadas al inicio del tratamiento. Se extrajeron las plantas del sustrato y con ayuda de un vernier y una balanza analítica, se midieron y registraron los siguientes caracteres morfológicos:

- a) Altura total de la plántula
- b) Longitud de la raíz principal
- c) Diámetro del tallo
- d) Longitud del hipocótilo

- e) Longitud de epicótilo
- f) Anchura y longitud de las hojas
- g) Peso fresco

#### 7.3.1.2 Variables anatómicas

##### a) Número de estomas

Para la descripción del tejido epidérmico y observación de estomas, se seleccionó una hoja completamente desarrollada, de la cual se cortó aproximadamente 0.5 cm del ápice, para la observación de estomas a través del método de impresiones epidérmicas con esmalte transparente; para ello se colocó el esmalte en el haz y envés de la hoja, se esperó hasta que se secó (10 minutos aprox.) y luego se retiró el esmalte con mucho cuidado utilizando pinzas de disección. La impresión obtenida se observó bajo el microscopio con el objetivo ocular de 40X para la descripción del tejido epidérmico y conteo de estomas (Dong y cols., 2014). El número de estomas por campo visual se registró por el conteo de éstos en 5 campos (repeticiones).

##### b) Tejido vascular

La parte restante de la hoja utilizada para la medición de estomas, se utilizó para realizar la observación y descripción del tejido vascular.

Se cortaron segmentos de hoja de aproximadamente 0.5 cm, los cuales fueron colocados en una solución de cloro comercial con el fin de eliminar el contenido de clorofila presente en el mesófilo y poder observar con mayor detalle la disposición y características del tejido vascular. Luego del aclaramiento con cloro, el segmento de hoja se pasó a un tubo eppendorf con floroglucinol durante 24 horas. Pasado ese tiempo la muestra se enjuagó y se colocó en un portaobjetos con su respectivo cubreobjetos para su posterior observación bajo el microscopio.

### 7.3.1.3 Variables histoquímicas

#### a) Identificación de almidón

Se obtuvieron segmentos o muestras de hoja de 0.5 cm para observar la acumulación de almidón; las muestras se colocaron en cloro comercial hasta eliminar el contenido de clorofila, para hacer más visible las estructuras y contenidos celulares. Luego de enjuagarse, con agua destilada, las muestras se colocaron en un portaobjetos y se le agregó unas gotas de solución de Lugol, se dejó reposar por 5 minutos y enseguida se tapó con el cubreobjetos para su posterior observación bajo el microscopio. El análisis de este contenido celular fue cualitativo (presencia/ ausencia) y se describió su distribución en los tejidos de la hoja.

#### b) Identificación de lípidos

Muestras de 0.5 cm de la hoja fueron utilizadas para observar los cuerpos lipídicos; a la muestras se le agregó cloro comercial hasta eliminar el contenido de clorofila. Después se colocaron en un portaobjetos y se le agregaron unas gotas de solución de Sudán IV, se dejó reposar por 5 minutos y enseguida se colocó el cubreobjetos para su observación bajo el microscopio. El análisis de este contenido celular también fue cualitativo (presencia/ ausencia) y se describió su distribución en el tejido.

#### c) Identificación de proteínas

Para la identificación de proteínas en la muestra de tejido se cortaron segmentos de aprox. 0.5 cm; se aclaró el tejido con cloro comercial y después se colocó en un portaobjetos adicionando unas gotas del colorante azul negro de naftol, se dejó reposar por 15 minutos, se colocó el cubreobjetos y se observó bajo el microscopio. El análisis del contenido de cuerpos de proteína fue cualitativo (presencia/ ausencia) y se describió su distribución particular en el tejido.

#### d) Identificación de polisacáridos insolubles

Para esta prueba histoquímica se cortó un segmento de aprox. 0.5 cm de la hoja; se aclaró en cloro comercial, se lavó el exceso de cloro con agua destilada y se adicionó unas gotas de reactivo de Schiff, se dejó reposar durante 15 minutos; el frotis obtenido se observó bajo el microscopio para identificar de manera cualitativa la presencia o ausencia de los polisacáridos.

#### 7.3.1.4 Variables fisiológicas

##### a) Protones titulables

La medición de pH y determinación de la concentración de acidez titulable se realizó de acuerdo al método modificado de Osmond y *co/s.*, (1989) y Loza (2004), que consiste en lo siguiente:

- Se obtuvo una hoja por planta de cada tratamiento, la cual se dividió en tres partes y de cada una de ellas se registró su peso utilizando una balanza analítica.
- Las muestras se trituraron en un mortero con 10 ml de agua desionizada.
- Las muestras maceradas fueron filtradas para separar el líquido o extracto.
- Se midió el pH inicial de cada extracto con un potenciómetro previamente calibrado.
- Se agregó dos gotas del indicador fenolftaleína al extracto.
- Se tituló agregando hidróxido de sodio 0.1M, hasta que el líquido se neutralizó.
- Las cantidades gastadas de NaOH se emplearon para determinar los protones titulables con la siguiente fórmula:

$$PT= (NaOH) (M) / (PF)$$

Dónde:

**PT:** Protones titulables (mol/g)

**NaOH:** Volumen utilizado de hidróxido de sodio (L)

**M:** Molaridad de NaOH (mol/L)

**PF:** Peso fresco de la muestra (g)

## b) Pigmentos fotosintéticos

### I. Índice de contenido de clorofila (ICC)

Para la determinación de esta variable, se utilizaron 15 hojas de plantas provenientes de cada tratamiento. Se utilizó un medidor portátil de contenido de clorofila CCM 200 plus (Opti-Sciences Inc.), obteniendo un valor promedio de ICC para cada tratamiento. Todas las mediciones se realizaron al medio día para evitar variaciones (Pereyra y *co/s.*, 2014).

Las ventajas de utilizar el medidor portátil de contenido de clorofila (CCM-200), es que está diseñado para la determinación rápida no destructiva de la concentración de clorofila en hojas intactas. De acuerdo a Richardson y *co/s.* (2002), la medición de clorofila mediante este equipo proporciona información directa sobre el potencial de fotosíntesis y la productividad primaria, ya que el muestreo está basado en las propiedades ópticas de las hojas, proporcionando mediciones directas en el campo sin destruir la muestra.

Los medidores de clorofila usan la absorbancia para calcular el contenido de clorofila foliar, estos producen un índice de contenido de clorofila (ICC) calculado por la relación porcentual de transmitancia a dos longitudes de onda: 653 y 931 nm. El índice de contenido de clorofila (ICC), es un valor relativo adimensional, sin embargo, los valores proporcionados se correlacionan positivamente con el contenido total de clorofila en varios estudios de diferentes especies (Ruiz y *co/s.*, 2010; Silla y *co/s.*, 2010; Dwyer y *co/s.*, 1991) con modelos matemáticos obtenidos para el contenido absoluto de clorofila.

### II. Carotenoides

#### A. Extracción de los pigmentos utilizando acetona al 80 % como solvente

Se tomó una muestra de la planta por cada tratamiento, se lavó y secó cuidadosamente para dividirla en tres partes (considerando cada parte como una repetición) y posteriormente se continuó con el siguiente procedimiento:

- Se pesó en la balanza analítica cada segmento de la planta y se registraron los valores.
- Se colocó cada muestra en un mortero, se agregó un poco de carbonato de magnesio para evitar acidificación.
- Se trituroó hasta macerar completamente el tejido, adicionando pequeños volúmenes de acetona al 80 % en el proceso.
- Se filtró cada extracto hacia matraces aforados, añadiendo acetona al mortero hasta extraer todos los pigmentos, sin exceder los 25 ml.
- Se aforaron los matraces con acetona al 80 %.
- Se cubrieron los frascos para evitar la foto-oxidación.

#### B. Cuantificación espectrofotométrica de los pigmentos

- Se ajustó el espectrofotómetro utilizando acetona al 80 % como blanco.
- Se midió la absorbancia de los extractos a 663 nm, 645 nm y 440.5 nm.
- Para conocer las distintas concentraciones de pigmentos, se utilizaron las siguientes ecuaciones (Holm, 1954; Wettstein, 1957):

$$Ca \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = 12.7 (A_{663}) - 2.69 (A_{645})$$

$$Cb \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = 22.9 (A_{645}) - 4.68 (A_{663})$$

$$Ca + b \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = (20.2 * A_{645}) + (8.02 * A_{663})$$

$$Ccar \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = 4.695 (A_{440.5}) - 0.268 (C a + b)$$

Dónde:

**Ca**: concentración de clorofila a

**Cb**: concentración de clorofila b

**Ca + b**: concentración total de clorofila

**Ccar**: concentración de carotenoides.

Tomando en cuenta el peso fresco:

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

Dónde:

**C:** Contenido de pigmento (mg/g)

**C<sub>1</sub>:** Concentración de clorofila *a*, *b*, total o carotenoides (mg/L) obtenidas en las ecuaciones anteriores

**V:** Volumen del extracto (L)

**PF:** Peso fresco de la muestra (g)

#### 7.4 **Crecimiento de plántulas en invernadero**

Al finalizar las mediciones, las plántulas se sembraron nuevamente y los semilleros se pusieron en anaqueles en condiciones de invernadero.

##### 7.4.1 Variables a evaluar del crecimiento de plántulas en invernadero

Transcurridos 30 días desde el cambio de las plántulas a invernadero, se prosiguió a valorar las características de las plántulas en desarrollo, bajo las mismas pruebas que se hicieron al finalizar el tratamiento con luces LED. Esto se realizó cada 30 días durante un lapso de 120 días.

#### 7.5 **Análisis estadístico**

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar en arreglo factorial 2X4X4. Los parámetros de la estadística descriptiva (media y error estándar) se determinaron mediante los procedimientos *proc means*, *proc univariate* y *proc GLM* para experimentos factoriales, así como con una prueba de comparaciones múltiples de Tukey ( $p < 0.05$ ) con el programa de análisis estadístico SAS (SAS, 2002).

## 8. RESULTADOS

### 8.1 Caracterización morfológica de la semilla

Las características morfológicas de las semillas varían de acuerdo a la variedad de la cual proceden, siendo mayor en tamaño y peso las semillas obtenidas del chile poblano. También, de acuerdo con los resultados obtenidos podemos observar diferencias mínimas para las variables grosor e índice de redondez entre las muestras de semillas provenientes de cada variedad (Cuadro 1).

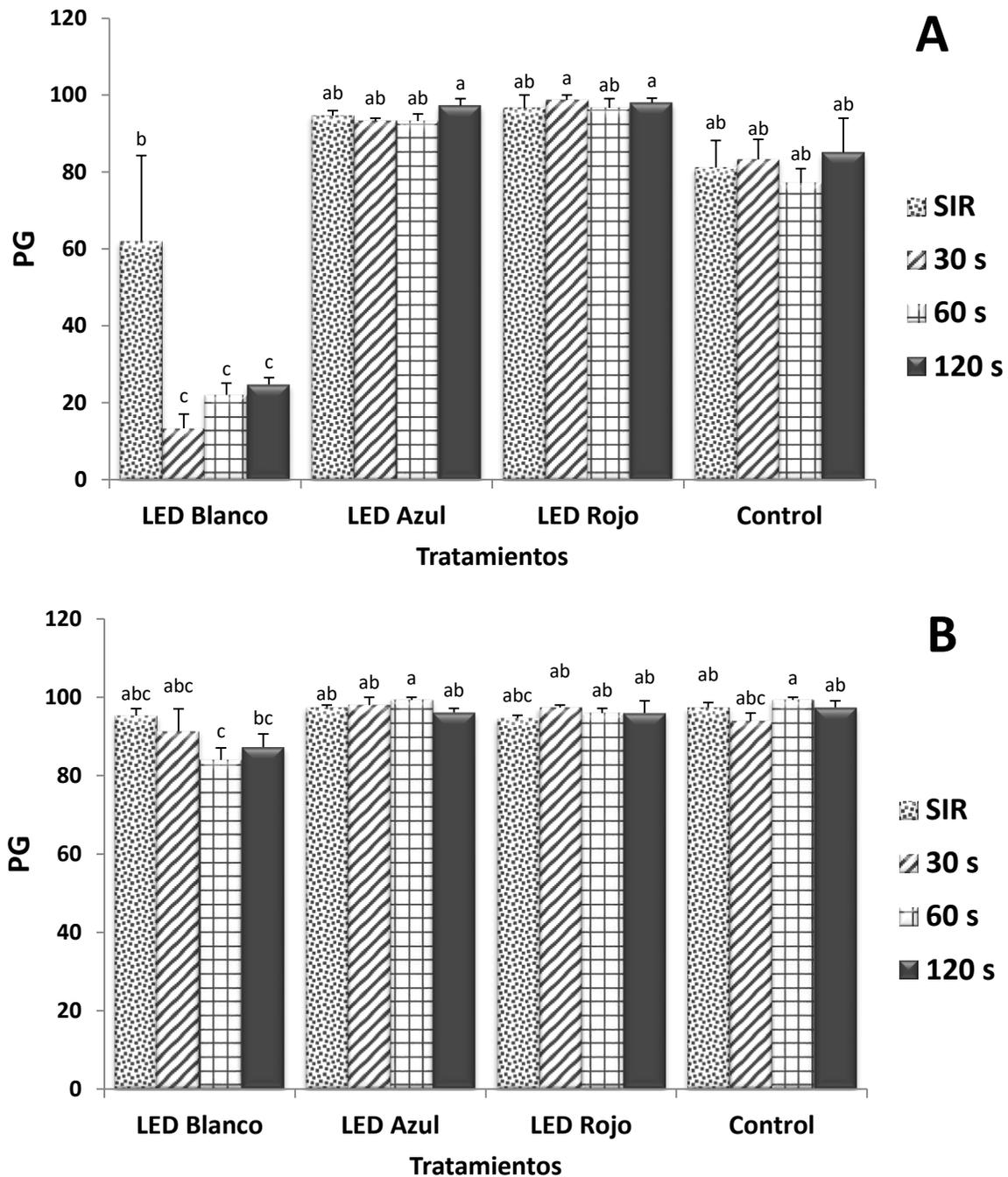
**Cuadro 1.** Caracteres morfológicos de semillas provenientes de chiles poblano y serrano.

	<b>Largo (mm)</b>	<b>Ancho (mm)</b>	<b>Grosor (mm)</b>	<b>Peso (mg)</b>	<b>Índice de Redondez</b>
<b>Chile Poblano</b>	5.1 ± 0.03	4.3 ± 0.04	1.0 ± 0.02	10.4 ± 0.21	0.85 ± 0.01
<b>Chile Serrano</b>	3.9 ± 0.04	3.2 ± 0.05	1.0 ± 0.02	7.8 ± 0.21	0.82 ± 0.01

Los datos representan la media ± error estándar.

### 8.2 Germinación y crecimiento inicial de las plántulas

La temperatura y humedad relativa que se registraron tuvieron un promedio de 24.4 °C y 35.8 % respectivamente. El porcentaje de germinación para la variedad poblano tuvo un valor máximo de 98.7 %, con el tratamiento de luz LED roja y 30 s de irradiación láser. Por su parte, el tratamiento de 30 s de láser He-Ne con luz LED blanca, presentó los valores más bajos con 13.3 % de germinación (Fig. 9A). La germinación de semillas de chile serrano fue favorecida con la dosis de 120 s de irradiación y particularmente el tratamiento de luz azul potenció este proceso; mientras que el tratamiento de 60 s de irradiación combinada con LEDs blancos fue el que obtuvo el valor menor, con un porcentaje de 84 % de germinación (Fig. 9B). Para ambas variedades (poblano y serrano), la prueba de comparación de Tukey ( $P < 0.05$ ) coloca a los tratamientos de luz LED blanca como los menos favorables, sin embargo, no hay diferencia significativa entre las dosis de irradiación láser y luz LED azul, roja, ni luz fluorescente como se muestra en la Figura 9A y 9B.



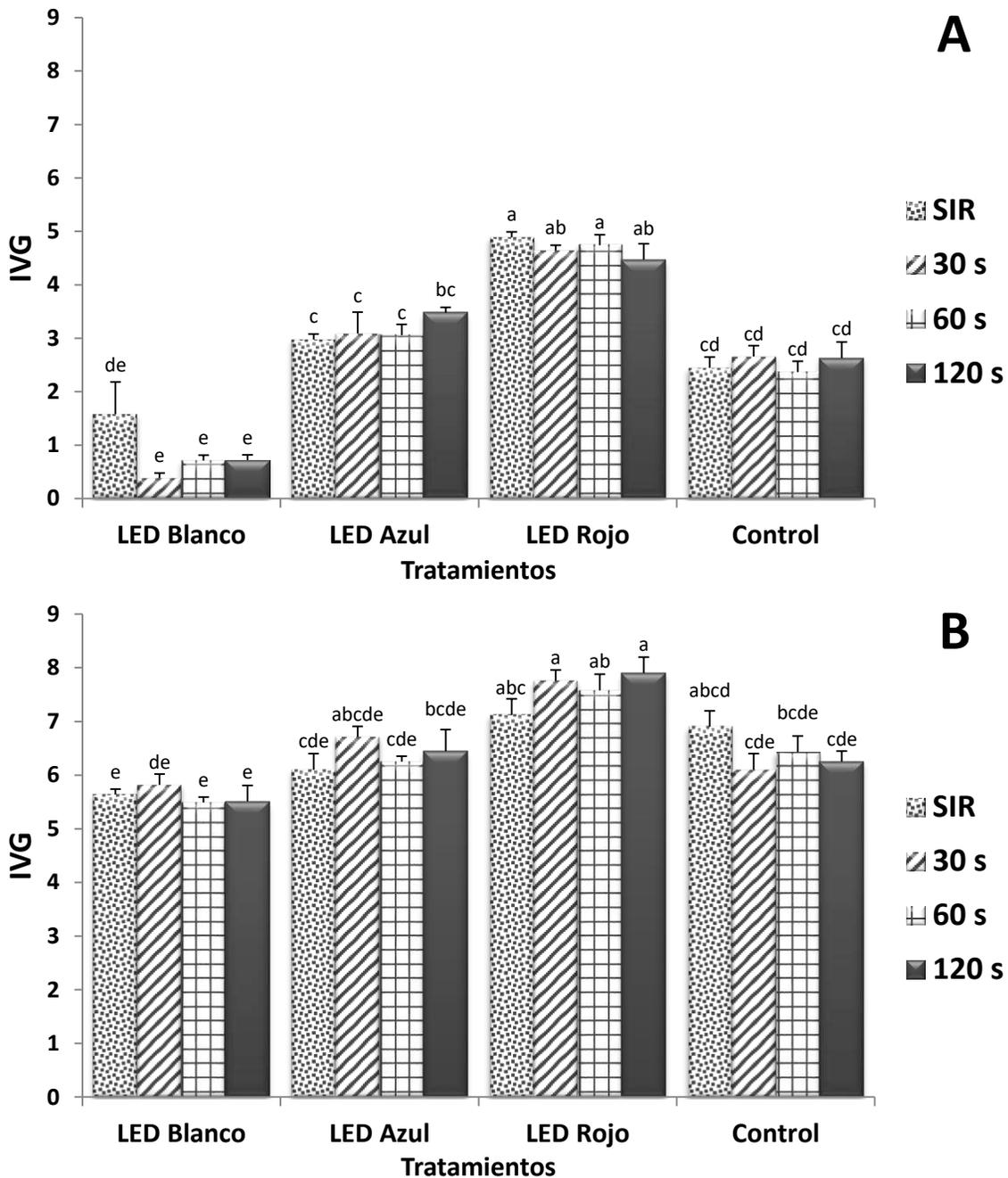
**Figura 9.** Porcentaje de Germinación (PG) de semillas de *Capsicum annuum* var. poblano (A) y serrano (B) sometidas a diferentes dosis de irradiación láser He-Ne y diodos emisores de luz (LEDs). Los datos representan la media  $\pm$  error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P < 0.05$ ).

Control = Luz Fluorescente; SIR = Semillas no irradiadas.

El índice de velocidad de germinación para las dos variedades de *Capsicum annuum*, fue superior en los tratamientos que incluyeron luz LED roja, seguido por los de luz azul; referente a las dosis de irradiación, no se observó diferencia estadística significativa entre ellas (Fig. 10A y B).

En cuanto a los indicadores de crecimiento inicial de plántulas de chile poblano y serrano (Cuadros 2 y 3), se observó una estimulación positiva con la irradiación láser; sin embargo, no hay una diferencia significativa entre las dosis utilizadas, comparadas con el control. En contraste, en los tratamientos de luz se registró un incremento en el crecimiento para ambas variedades, poblano y serrano al ser expuestos con las luces LEDs azul y roja; la luz azul por ejemplo, aumentó el peso fresco y área foliar (longitud y/o anchura del cotiledón) de las plántulas, mientras que la altura total tuvo un mayor crecimiento con el tratamiento de luz roja (Cuadro 2 y 3).

La variedad de chile poblano alcanzó su máxima altura, 117.1 mm, con el tratamiento de 120 s de láser combinado con luz LED roja (Cuadro 2); este mismo tipo de luz influyó en que las plántulas de chile serrano alcanzaran una altura máxima de 102.7 mm con el tratamiento sin irradiar (Cuadro 3). En el caso de los cotiledones, en la variedad de chile serrano tuvieron una longitud de 11.6 mm con el tratamiento de luz azul y 60 s de láser He-Ne (Cuadro 3); observándose un efecto similar con las plántulas de chile poblano, las cuales se vieron beneficiadas con la dosis de 30 s de irradiación y diodos emisores de luz azul (Cuadro 2).



**Figura 10.** Índice de Velocidad de Germinación (IVG) de semillas de *Capsicum annuum* var. poblano **(A)** y serrano **(B)**, sometidas a diferentes dosis de irradiación láser He-Ne y diodos emisores de luz (LEDs). Los datos representan la media  $\pm$  error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P < 0.05$ ).

Control = Luz Fluorescente; SIR = Semillas no irradiadas

**Cuadro 2.** Caracteres morfológicos de plántulas de chile poblano en Etapa I, provenientes de semillas sometidas a diferentes dosis de irradiación láser He-Ne, bajo la influencia de diodos emisores de luz (LEDs).

Tratamiento de luz	Tiempo de exposición láser	Peso fresco (g)	Altura total (mm)	Diam. hipocótilo (mm)	Ancho cotiledón (mm)	Long. cotiledón (mm)
<b>LED Blanco</b>	<b>SIR</b>	0.05 ± 0.002 <sup>cd</sup>	19.5 ± 2.3 <sup>e</sup>	0.97 ± 0.1 <sup>ab</sup>	2.0 ± 0.4 <sup>b</sup>	8.5 ± 1.6 <sup>b</sup>
	<b>30s</b>	0.04 ± 0.003 <sup>d</sup>	8.8 ± 1.4 <sup>e</sup>	0.55 ± 0.1 <sup>c</sup>	0.4 ± 0.2 <sup>c</sup>	1.6 ± 1.1 <sup>c</sup>
	<b>60s</b>	0.04 ± 0.004 <sup>d</sup>	12.2 ± 2.1 <sup>e</sup>	0.62 ± 0.1 <sup>c</sup>	1.0 ± 0.3 <sup>c</sup>	3.5 ± 1.2 <sup>c</sup>
	<b>120s</b>	0.04 ± 0.005 <sup>cd</sup>	13.9 ± 4.4 <sup>e</sup>	0.72 ± 0.1 <sup>bc</sup>	0.8 ± 0.3 <sup>c</sup>	3.3 ± 1.4 <sup>c</sup>
<b>LED Azul</b>	<b>SIR</b>	0.05 ± 0.004 <sup>cd</sup>	64.0 ± 14.5 <sup>cd</sup>	1.01 ± 0.03 <sup>ab</sup>	2.5 ± 0.1 <sup>ab</sup>	12.0 ± 0.8 <sup>ab</sup>
	<b>30s</b>	0.07 ± 0.004 <sup>ab</sup>	93.5 ± 7.0 <sup>abc</sup>	1.06 ± 0.03 <sup>ab</sup>	3.3 ± 0.2 <sup>a</sup>	13.7 ± 0.8 <sup>a</sup>
	<b>60s</b>	0.07 ± 0.01 <sup>ab</sup>	30.9 ± 6.9 <sup>de</sup>	1.07 ± 0.04 <sup>ab</sup>	2.6 ± 0.1 <sup>ab</sup>	12.0 ± 0.9 <sup>ab</sup>
	<b>120s</b>	0.08 ± 0.003 <sup>a</sup>	77.6 ± 7.8 <sup>bc</sup>	1.12 ± 0.02 <sup>a</sup>	3.0 ± 0.1 <sup>a</sup>	11.0 ± 0.8 <sup>ab</sup>
<b>LED Rojo</b>	<b>SIR</b>	0.05 ± .002 <sup>cd</sup>	86.7 ± 11.0 <sup>abc</sup>	1.2 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.7 ± 0.1 <sup>ab</sup>	12.7 ± 0.3 <sup>a</sup>
	<b>30s</b>	0.06 ± .002 <sup>bc</sup>	117.1 ± 11.3 <sup>a</sup>	1.2 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.6 ± 0.1 <sup>ab</sup>	13.0 ± 0.3 <sup>a</sup>
	<b>60s</b>	0.05 ± .002 <sup>bcd</sup>	115.8 ± 8.0 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.7 ± 0.1 <sup>ab</sup>	12.7 ± 0.3 <sup>a</sup>
	<b>120s</b>	0.06 ± .002 <sup>bcd</sup>	110.7 ± 9.0 <sup>ab</sup>	1.2 ± 0.04 <sup>a</sup>	2.7 ± 0.1 <sup>ab</sup>	13.3 ± 0.3 <sup>a</sup>
<b>Control</b>	<b>SIR</b>	0.05 ± .004 <sup>cd</sup>	35.7 ± 6.1 <sup>de</sup>	1.2 ± 0.05 <sup>a</sup>	3.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	13.5 ± 0.4 <sup>a</sup>
	<b>30s</b>	0.05 ± .003 <sup>cd</sup>	24.5 ± 1.7 <sup>e</sup>	1.3 ± 0.04 <sup>a</sup>	2.9 ± 0.1 <sup>ab</sup>	13.5 ± 0.4 <sup>a</sup>
	<b>60s</b>	0.05 ± .003 <sup>cd</sup>	32.4 ± 5.4 <sup>de</sup>	1.3 ± 0.05 <sup>a</sup>	2.9 ± 0.1 <sup>ab</sup>	12.9 ± 0.4 <sup>a</sup>
	<b>120s</b>	0.06 ± .003 <sup>bcd</sup>	36.7 ± 3.5 <sup>de</sup>	1.3 ± 0.04 <sup>a</sup>	3.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	13.8 ± 0.5 <sup>a</sup>

Los datos representan la media ± error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P < 0.05$ ).

Control = Luz Fluorescente; SIR = Semillas no irradiadas; Diam = Diámetro; Long = Longitud

**Cuadro 3.** Caracteres morfológicos de plántulas de chile serrano en Etapa I, provenientes de semillas sometidas a diferentes dosis de irradiación láser He-Ne, bajo la influencia de diodos emisores de luz (LEDs).

Tratamiento de luz	Tiempo de exposición láser	Peso fresco (g)	Altura total (mm)	Diam. hipocótilo (mm)	Ancho cotiledón (mm)	Long. cotiledón (mm)
<b>LED Blanco</b>	<b>SIR</b>	0.04 ± 0.002 <sup>ab</sup>	41.2 ± 4.9 <sup>dc</sup>	0.98 ± 0.03 <sup>ab</sup>	2.4 ± 0.1 <sup>a</sup>	11.3 ± 0.5 <sup>a</sup>
	<b>30s</b>	0.04 ± 0.003 <sup>b</sup>	57.7 ± 6.9 <sup>dc</sup>	0.93 ± 0.04 <sup>bc</sup>	2.3 ± 0.2 <sup>a</sup>	9.3 ± 0.4 <sup>bc</sup>
	<b>60s</b>	0.03 ± 0.002 <sup>b</sup>	46.0 ± 7.5 <sup>dc</sup>	0.97 ± 0.03 <sup>ab</sup>	2.7 ± 0.6 <sup>a</sup>	8.8 ± 0.3 <sup>c</sup>
	<b>120s</b>	0.04 ± 0.003 <sup>ab</sup>	66.1 ± 9.6 <sup>bc</sup>	0.89 ± 0.03 <sup>bc</sup>	2.0 ± 0.1 <sup>a</sup>	8.7 ± 0.4 <sup>c</sup>
<b>LED Azul</b>	<b>SIR</b>	0.04 ± 0.002 <sup>ab</sup>	51.0 ± 5.1 <sup>dc</sup>	0.87 ± 0.02 <sup>bc</sup>	2.4 ± 0.1 <sup>a</sup>	11.2 ± 0.4 <sup>a</sup>
	<b>30s</b>	0.05 ± 0.003 <sup>ab</sup>	47.1 ± 4.6 <sup>dc</sup>	0.88 ± 0.03 <sup>bc</sup>	2.2 ± 0.2 <sup>a</sup>	11.3 ± 0.4 <sup>a</sup>
	<b>60s</b>	0.07 ± 0.024 <sup>a</sup>	34.8 ± 3.9 <sup>d</sup>	0.81 ± 0.02 <sup>c</sup>	2.3 ± 0.1 <sup>a</sup>	11.6 ± 0.3 <sup>a</sup>
	<b>120s</b>	0.05 ± 0.003 <sup>ab</sup>	40.7 ± 3.9 <sup>dc</sup>	0.85 ± 0.02 <sup>bc</sup>	2.1 ± 0.2 <sup>a</sup>	11.0 ± 0.4 <sup>ab</sup>
<b>LED Rojo</b>	<b>SIR</b>	0.04 ± 0.001 <sup>ab</sup>	102.7 ± 4.5 <sup>a</sup>	0.89 ± 0.03 <sup>bc</sup>	2.2 ± 0.1 <sup>a</sup>	10.1 ± 0.3 <sup>abc</sup>
	<b>30s</b>	0.04 ± 0.002 <sup>b</sup>	98.8 ± 4.7 <sup>a</sup>	0.81 ± 0.02 <sup>c</sup>	2.1 ± 0.2 <sup>a</sup>	9.9 ± 0.3 <sup>abc</sup>
	<b>60s</b>	0.04 ± 0.001 <sup>b</sup>	88.2 ± 5.0 <sup>ab</sup>	0.81 ± 0.02 <sup>c</sup>	2.5 ± 0.1 <sup>a</sup>	10.2 ± 0.3 <sup>abc</sup>
	<b>120s</b>	0.04 ± 0.002 <sup>ab</sup>	91.8 ± 4.8 <sup>ab</sup>	0.79 ± 0.03 <sup>c</sup>	2.4 ± 0.1 <sup>a</sup>	10.7 ± 0.4 <sup>ab</sup>
<b>Control</b>	<b>SIR</b>	0.04 ± 0.003 <sup>ab</sup>	46.9 ± 3.8 <sup>dc</sup>	0.92 ± 0.04 <sup>bc</sup>	2.6 ± 0.1 <sup>a</sup>	11.0 ± 0.4 <sup>ab</sup>
	<b>30s</b>	0.05 ± 0.003 <sup>ab</sup>	50.9 ± 4.1 <sup>dc</sup>	1.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.6 ± 0.1 <sup>a</sup>	10.7 ± 0.4 <sup>ab</sup>
	<b>60s</b>	0.04 ± 0.003 <sup>ab</sup>	47.8 ± 4.1 <sup>dc</sup>	1.0 ± 0.04 <sup>ab</sup>	2.5 ± 0.1 <sup>a</sup>	11.5 ± 0.4 <sup>a</sup>
	<b>120s</b>	0.05 ± 0.004 <sup>ab</sup>	46.2 ± 5.8 <sup>dc</sup>	0.98 ± 0.04 <sup>ab</sup>	2.6 ± 0.2 <sup>a</sup>	10.9 ± 0.4 <sup>ab</sup>

Los datos representan la media ± error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P < 0.05$ ).

Control = Luz Fluorescente; SIR = Semillas no irradiadas; Diam= Diámetro; Long= Longitud

### 8.3 Crecimiento de plántulas en condiciones de laboratorio

#### 8.3.1 Morfología de plántulas

Para la variedad de chile poblano, los atributos morfológicos como el peso fresco, altura, área foliar y diámetro del hipocótilo, aumentaron significativamente en las plántulas provenientes de semillas tratadas con láser y expuestas a diodos emisores de luz. Se observó un aumento máximo en los atributos de crecimiento con 60 y 120 s de irradiación láser al combinarse con luz LED blanca. Los incrementos en el diámetro del hipocótilo, ancho y longitud de la hoja fueron 230.8, 368.3 y 423.7 %, respectivamente en relación al control tomado como 100 %. No se encontró una diferencia significativa de los tratamientos con luz roja en comparación con los de luz fluorescente (Cuadro 4).

En comparación, en la variedad de chile serrano, la luz blanca destacó como el tratamiento menos favorable sobre los indicadores de crecimiento. Para esta variedad, se observó que la combinación de la luz LED azul con la dosis de 60 s de láser, produce efectos positivos al incrementar los valores promedio de altura, diámetro del hipocótilo, longitud y ancho de la hoja. De igual manera, el tratamiento de 120 s de irradiación junto con luz LED roja tuvo un efecto positivo en cuanto a la altura y peso fresco de la plántula. Las variables morfológicas, por ejemplo, peso fresco y altura de las plántulas, incrementaron con estos tratamientos hasta en 209.1 y 132.6 % respectivamente, en comparación con el control tomado como 100 % (Cuadro 5).

#### 8.3.2 Anatomía de la epidermis: Número de estomas

Las variedades de chile estudiadas, no tuvieron una similitud en el número de estomas presentes en el envés de las hojas, resultado de los tratamientos de láser He-Ne y LEDs, en la Figura 11 se muestran los valores registrados.

En las hojas de chile poblano, no se observó una diferencia significativa entre las dosis de irradiación del láser ni los tratamientos de luz LED azul, LED rojo y luz fluorescente. Sin embargo, el mayor número de estomas (30 estomas por campo), estuvo presente en las hojas de las plántulas sometidas a 120 s y al control de láser junto con luz LED roja (Figura 11A).

Para el chile serrano, el valor máximo del número de estomas (53 estomas por campo) en las hojas de las plántulas, corresponde al tratamiento de LEDs azules combinado con la dosis de 60 s de irradiación láser He-Ne (Figura 11B).

**Cuadro 4.** Caracteres morfológicos de plántulas de chile poblano en Etapa II, provenientes de semillas sometidas a diferentes dosis de irradiación láser He-Ne, bajo la influencia de diodos emisores de luz (LEDs).

Tratamiento de luz	Tiempo de exposición láser	Peso fresco (g)	Altura total (mm)	Diam. hipocótilo (mm)	Ancho hoja (mm)	Long. hoja (mm)
<b>LED Blanco</b>	<b>SIR</b>	2.5 ± 0.4 <sup>bc</sup>	177.2 ± 21.8 <sup>a</sup>	2.4 ± 0.2 <sup>c</sup>	22.5 ± 1.4 <sup>b</sup>	40.3 ± 2.7 <sup>bc</sup>
	<b>30s</b>	2.2 ± 0.6 <sup>c</sup>	139.4 ± 29.0 <sup>abc</sup>	2.6 ± 0.3 <sup>bc</sup>	27.7 ± 4.6 <sup>a</sup>	48.1 ± 7.4 <sup>ab</sup>
	<b>60s</b>	3.6 ± 0.8 <sup>a</sup>	139.4 ± 19.9 <sup>abc</sup>	2.8 ± 0.2 <sup>ab</sup>	30.2 ± 3.1 <sup>a</sup>	55.5 ± 5.2 <sup>a</sup>
	<b>120s</b>	3.2 ± 0.8 <sup>ab</sup>	151.5 ± 34.7 <sup>ab</sup>	3.0 ± 0.3 <sup>a</sup>	29.7 ± 3.5 <sup>a</sup>	52.7 ± 6.4 <sup>a</sup>
<b>LED Azul</b>	<b>SIR</b>	1.0 ± 0.2 <sup>de</sup>	71.8 ± 8.5 <sup>fg</sup>	1.9 ± 0.1 <sup>de</sup>	14.8 ± 1.5 <sup>c</sup>	29.6 ± 2.7 <sup>d</sup>
	<b>30s</b>	0.3 ± 0.1 <sup>ef</sup>	78.8 ± 7.3 <sup>efg</sup>	1.6 ± 0.1 <sup>ef</sup>	12.5 ± 1.2 <sup>cd</sup>	25.8 ± 1.9 <sup>de</sup>
	<b>60s</b>	0.3 ± 0.1 <sup>ef</sup>	38.2 ± 3.6 <sup>g</sup>	1.9 ± 0.1 <sup>de</sup>	10.0 ± 1.1 <sup>de</sup>	20.6 ± 2.1 <sup>ef</sup>
	<b>120s</b>	1.3 ± 0.2 <sup>d</sup>	141.6 ± 11.1 <sup>abc</sup>	2.3 ± 0.1 <sup>cd</sup>	20.1 ± 1.3 <sup>b</sup>	37.7 ± 2.4 <sup>c</sup>
<b>LED Rojo</b>	<b>SIR</b>	0.09 ± 0.01 <sup>f</sup>	90.4 ± 5.8 <sup>cdefg</sup>	1.3 ± 0.1 <sup>fg</sup>	7.7 ± 0.3 <sup>e</sup>	11.8 ± 0.5 <sup>g</sup>
	<b>30s</b>	0.12 ± 0.01 <sup>f</sup>	100.7 ± 11.1 <sup>bcdef</sup>	1.1 ± 0.03 <sup>g</sup>	8.5 ± 0.4 <sup>de</sup>	11.3 ± 0.3 <sup>g</sup>
	<b>60s</b>	0.09 ± 0.01 <sup>f</sup>	82.9 ± 5.8 <sup>defg</sup>	1.2 ± 0.03 <sup>g</sup>	7.5 ± 0.3 <sup>e</sup>	12.0 ± 0.4 <sup>g</sup>
	<b>120s</b>	0.11 ± 0.01 <sup>f</sup>	104.5 ± 8.7 <sup>bcdef</sup>	1.3 ± 0.02 <sup>fg</sup>	7.8 ± 0.2 <sup>e</sup>	12.1 ± 0.4 <sup>g</sup>
<b>Control</b>	<b>SIR</b>	0.13 ± 0.01 <sup>f</sup>	136.6 ± 10.8 <sup>abcd</sup>	1.3 ± 0.03 <sup>fg</sup>	8.2 ± 0.3 <sup>de</sup>	13.1 ± 0.3 <sup>fg</sup>
	<b>30s</b>	0.14 ± 0.01 <sup>f</sup>	130.0 ± 21.1 <sup>abcde</sup>	1.4 ± 0.05 <sup>fg</sup>	9.0 ± 0.3 <sup>de</sup>	14.4 ± 0.6 <sup>fg</sup>
	<b>60s</b>	0.13 ± 0.01 <sup>f</sup>	151.1 ± 18.5 <sup>ab</sup>	1.3 ± 0.03 <sup>fg</sup>	7.5 ± 0.3 <sup>e</sup>	12.5 ± 0.4 <sup>g</sup>
	<b>120s</b>	0.11 ± 0.01 <sup>f</sup>	100.8 ± 8.9 <sup>bcdef</sup>	1.4 ± 0.04 <sup>fg</sup>	8.0 ± 0.3 <sup>e</sup>	13.6 ± 0.5 <sup>fg</sup>

Los datos representan la media ± error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P < 0.05$ ).

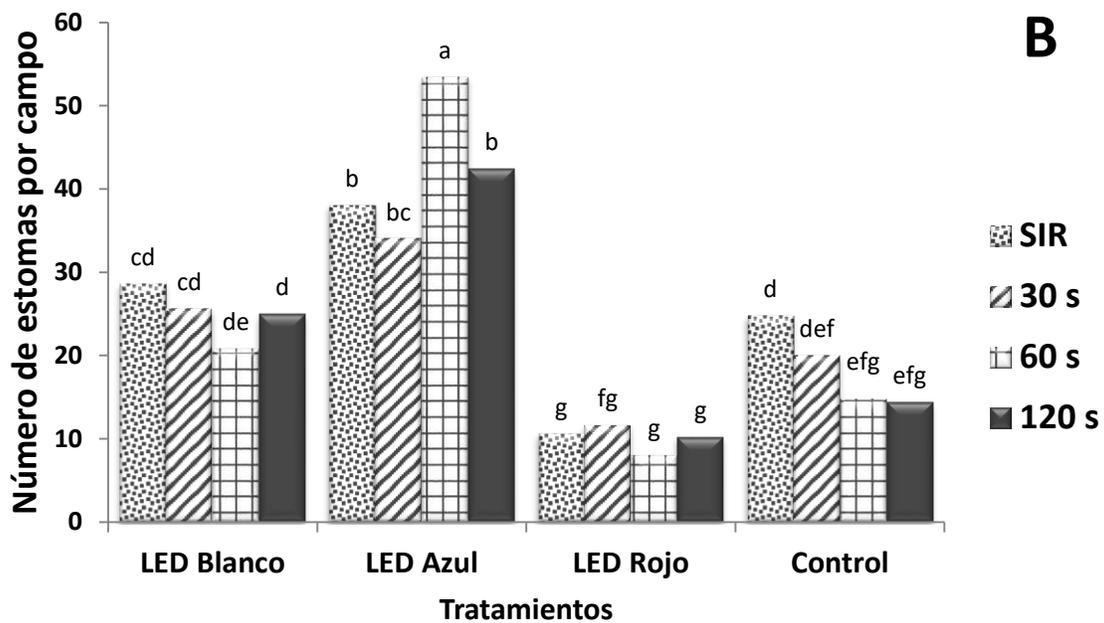
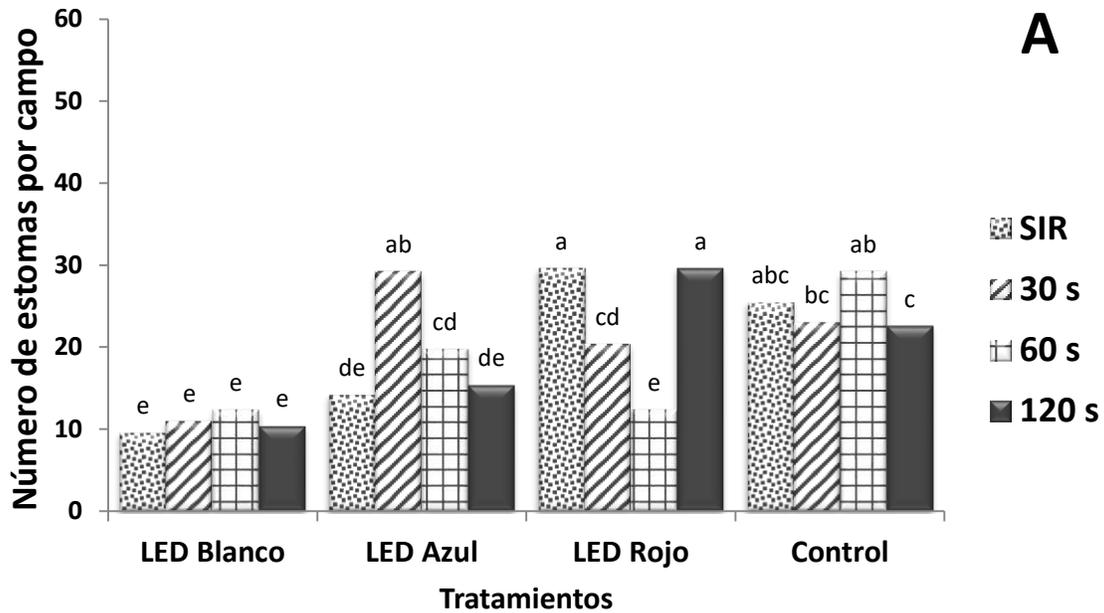
Control = Luz Fluorescente; SIR = Semillas no irradiadas; Diam= Diámetro; Long= Longitud

**Cuadro 5.** Caracteres morfológicos de plántulas de chile serrano en Etapa II, provenientes de semillas sometidas a diferentes dosis de irradiación láser He-Ne, bajo la influencia de diodos emisores de luz (LEDs).

Tratamiento de luz	Tiempo de exposición láser	Peso fresco (g)	Altura total (mm)	Diam. hipocótilo (mm)	Ancho hoja (mm)	Long. hoja (mm)
<b>LED Blanco</b>	<b>SIR</b>	0.08 ± 0.01 <sup>gh</sup>	96.9 ± 5.0 <sup>fg</sup>	1.2 ± 0.05 <sup>ab</sup>	5.6 ± 0.3 <sup>efg</sup>	10.1 ± 0.5 <sup>ef</sup>
	<b>30s</b>	0.07 ± 0.01 <sup>h</sup>	70.9 ± 21.7 <sup>j</sup>	1.0 ± 0.04 <sup>bcd</sup>	4.9 ± 0.3 <sup>fg</sup>	9.3 ± 0.4 <sup>f</sup>
	<b>60s</b>	0.05 ± 0.01 <sup>i</sup>	84.2 ± 10.4 <sup>hi</sup>	1.0 ± 0.06 <sup>bcd</sup>	4.7 ± 0.3 <sup>g</sup>	9.2 ± 0.6 <sup>f</sup>
	<b>120s</b>	0.03 ± 0.01 <sup>j</sup>	81.9 ± 10.1 <sup>ij</sup>	1.1 ± 0.04 <sup>bcd</sup>	4.2 ± 0.3 <sup>g</sup>	7.9 ± 0.4 <sup>f</sup>
<b>LED Azul</b>	<b>SIR</b>	0.11 ± 0.01 <sup>f</sup>	92.0 ± 8.9 <sup>ghi</sup>	0.95 ± 0.08 <sup>d</sup>	5.7 ± 0.3 <sup>efg</sup>	10.1 ± 0.5 <sup>ef</sup>
	<b>30s</b>	0.09 ± 0.02 <sup>g</sup>	118.3 ± 4.5 <sup>cd</sup>	1.1 ± 0.02 <sup>abcd</sup>	6.6 ± 0.3 <sup>cde</sup>	11.9 ± 0.4 <sup>de</sup>
	<b>60s</b>	0.16 ± 0.03 <sup>cd</sup>	147.0 ± 18.0 <sup>a</sup>	1.3 ± 0.03 <sup>a</sup>	9.8 ± 0.3 <sup>a</sup>	17.8 ± 0.6 <sup>a</sup>
	<b>120s</b>	0.09 ± 0.01 <sup>g</sup>	119.7 ± 18.7 <sup>c</sup>	1.2 ± 0.05 <sup>ab</sup>	6.2 ± 0.4 <sup>def</sup>	11.9 ± 0.7 <sup>de</sup>
<b>LED Rojo</b>	<b>SIR</b>	0.15 ± 0.01 <sup>de</sup>	113.7 ± 9.1 <sup>cde</sup>	1.0 ± 0.03 <sup>bcd</sup>	10.1 ± 0.3 <sup>a</sup>	16.3 ± 0.7 <sup>ab</sup>
	<b>30s</b>	0.17 ± 0.01 <sup>c</sup>	122.6 ± 12.3 <sup>bc</sup>	1.0 ± 0.03 <sup>bcd</sup>	9.0 ± 0.3 <sup>ab</sup>	15.7 ± 0.6 <sup>ab</sup>
	<b>60s</b>	0.21 ± 0.03 <sup>b</sup>	116.9 ± 16.4 <sup>cd</sup>	1.1 ± 0.04 <sup>abcd</sup>	10.0 ± 0.5 <sup>a</sup>	16.7 ± 0.7 <sup>ab</sup>
	<b>120s</b>	0.23 ± 0.05 <sup>a</sup>	133.8 ± 21.8 <sup>b</sup>	1.1 ± 0.03 <sup>abcd</sup>	9.1 ± 0.4 <sup>ab</sup>	15.2 ± 0.6 <sup>bc</sup>
<b>Control</b>	<b>SIR</b>	0.11 ± 0.02 <sup>f</sup>	100.9 ± 12.7 <sup>fg</sup>	1.2 ± 0.05 <sup>abc</sup>	6.6 ± 0.2 <sup>cde</sup>	12.0 ± 0.5 <sup>de</sup>
	<b>30s</b>	0.11 ± 0.02 <sup>f</sup>	108.5 ± 9.5 <sup>def</sup>	1.0 ± 0.05 <sup>cd</sup>	6.6 ± 0.4 <sup>cde</sup>	12.0 ± 0.7 <sup>de</sup>
	<b>60s</b>	0.14 ± 0.02 <sup>e</sup>	95.6 ± 4.2 <sup>gh</sup>	1.1 ± 0.04 <sup>abcd</sup>	7.4 ± 0.3 <sup>cd</sup>	13.1 ± 0.5 <sup>cd</sup>
	<b>120s</b>	0.12 ± 0.03 <sup>f</sup>	102.6 ± 1.9 <sup>efg</sup>	1.1 ± 0.03 <sup>abcd</sup>	7.9 ± 0.3 <sup>bc</sup>	14.3 ± 0.3 <sup>cd</sup>

Los datos representan la media ± error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P < 0.05$ ).

Control= Luz Fluorescente; SIR= Semillas no irradiadas; Diam= Diámetro; Long= Longitud



**Figura 11.** Número de estomas en el envés de las hojas de chile poblano **(A)** y serrano **(B)** en Etapa II, provenientes de semillas sometidas a diferentes dosis de irradiación láser He-Ne, bajo la influencia de diodos emisores de luz (LEDs). Los datos representan la media. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P < 0.05$ ). Control = Luz Fluorescente; SIR = Semillas no irradiadas

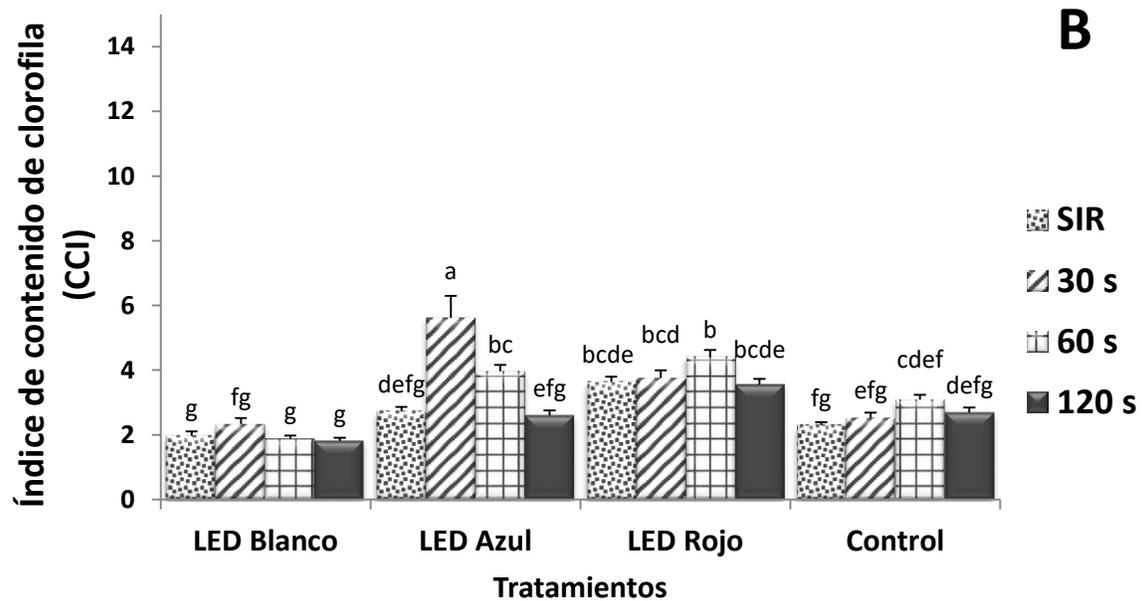
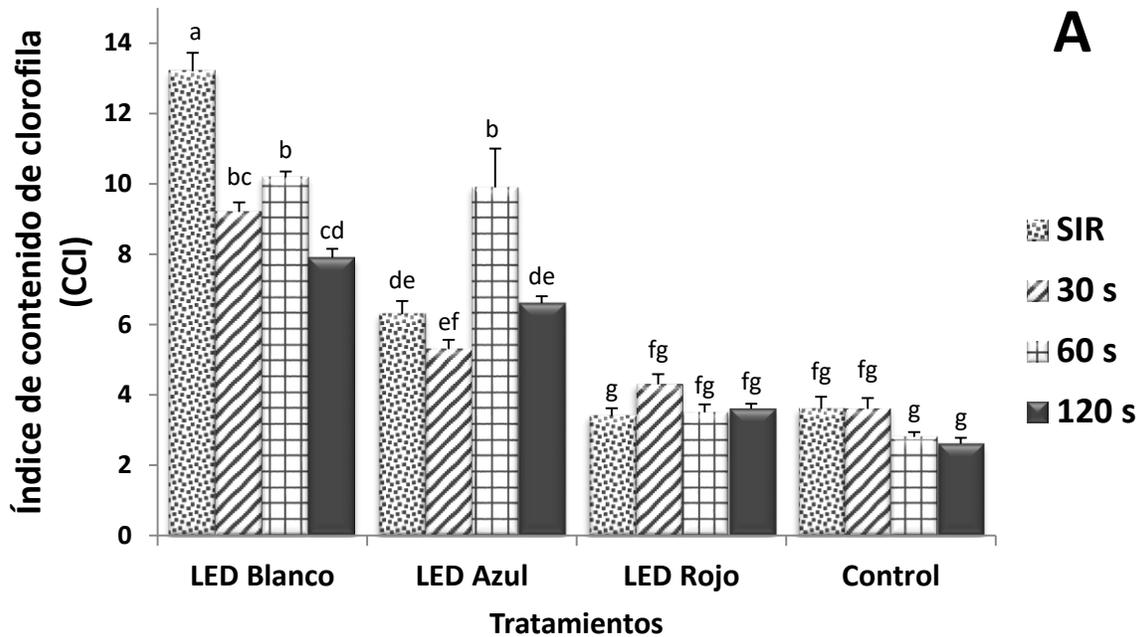
### 8.3.3 Fisiología de plántulas

#### 8.3.3.1 Índice de contenido de clorofila

El índice de contenido de clorofila (ICC) en las hojas de *Capsicum annuum* con los tratamientos de diodos emisores de luz y láser He-Ne, fue generalmente mayor que en las plantas no bioestimuladas (Fig. 12).

En el caso de las plántulas de chile poblano, las medias oscilaron entre 2.6 y 13.2 CCI; el tratamiento con LEDs blancos y control de irradiación fue el que tuvo un mayor efecto sobre el índice de contenido de clorofila, mientras que el tratamiento de 120 s de láser junto con la luz fluorescente, fue el menos favorable. Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre éste y los tratamientos restantes que incluyeron luz fluorescente y LEDs rojos (Figura 12A).

De la variedad de chile serrano, las plántulas cultivadas a partir de semillas tratadas con dosis de 30 s de láser, presentaron un mayor índice de contenido de clorofila en comparación con el control y las dosis de 60 y 120 segundos. Con respecto a los tratamientos de luz, las plántulas tratadas con LEDs rojos y azules fueron las que presentaron los valores más altos de ICC. En particular, la dosis de irradiación de 30 s láser He-Ne combinada con LEDs azules destacó como el mejor tratamiento, al mostrar un valor 59.1 % superior al control (Fig. 12B).



**Figura 12.** Índice de contenido de clorofila de plantas de chile poblano **(A)** y serrano **(B)** en Etapa II, provenientes de semillas sometidas a diferentes dosis de irradiación láser He-Ne, bajo la influencia de diodos emisores de luz (LEDs). Los datos representan la media  $\pm$  desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P < 0.05$ ).

Control= Luz Fluorescente; SIR= Semillas no irradiadas

## 8.4 Crecimiento de plántulas en invernadero

### 8.4.1 Morfología de plántulas

Se observó una influencia positiva del láser He-Ne y la tecnología LED sobre las características morfológicas de crecimiento de las plantas de chile en la etapa VI en invernadero.

Las plantas de *Capsicum annuum* var. poblano mejor desarrolladas morfológicamente, fueron producto de la exposición a la luz LED blanca; la longitud (50.7 mm), ancho (27.6 mm) y número de hojas (12) demuestran un efecto significativo bajo la influencia de la aplicación de 60 s de irradiación láser, mientras que el diámetro (3.1 mm) y la longitud del tallo (145.9 mm) mostraron los valores más altos con el control de irradiación. Además de éstos, el tratamiento combinado de luz azul con 120 s de irradiación también favoreció las características de crecimiento de las plantas de chile poblano. Por otra parte, entre los tratamientos de láser combinados con luz LED roja y luz fluorescente no se presentó una diferencia estadística significativa (Cuadro 6).

Las plantas de la variedad serrano que se sometieron a láser He-Ne con 120 s de irradiación junto con luz LED roja tuvieron un diámetro del tallo mayor que el resto de las plantas. La luz roja, además, favoreció el alargamiento del tallo en más del 60 % en comparación con el control. En cuanto a la longitud y ancho de las hojas, el análisis estadístico reveló un aumento significativo con el tratamiento de diodos emisores de luz azul y la dosis de 120 s de láser, mostrando valores de 15.1 y 23.6 mm respectivamente, dando como resultado un aumento en conjunto del 40 % en el área foliar (Cuadro 7).

El número de hojas por planta de chile serrano, fue estadísticamente diferente entre los tratamientos de luz LED y láser; las plantas que recibieron luz azul junto con 120 s de irradiación, tuvieron mayor número de hojas y fueron significativamente diferentes que las plantas que se cultivaron bajo luz roja, blanca o fluorescente (Cuadro 7).

**Cuadro 6.** Caracteres morfológicos de plántulas de chile poblano en Etapa VI, provenientes de semillas sometidas a diferentes dosis de irradiación láser He-Ne, bajo la influencia de diodos emisores de luz (LEDs).

Tratamiento de luz	Tiempo de exposición láser	Diam. tallo (mm)	Long. tallo (mm)	Ancho hoja (mm)	Long. hoja (mm)	Número hojas
LED Blanco	SIR	3.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	145.9 ± 9.1 <sup>a</sup>	27.1 ± 1.7 <sup>ab</sup>	49.4 ± 2.4 <sup>a</sup>	11 ± 0.6 <sup>a</sup>
	30s	2.3 ± 0.2 <sup>c</sup>	80.8 ± 11.6 <sup>c</sup>	20.0 ± 2.1 <sup>c</sup>	38.7 ± 3.6 <sup>c</sup>	9 ± 1.2 <sup>b</sup>
	60s	2.8 ± 0.1 <sup>b</sup>	90.4 ± 7.7 <sup>c</sup>	27.6 ± 2.6 <sup>ab</sup>	50.7 ± 3.7 <sup>a</sup>	12 ± 1.7 <sup>a</sup>
	120s	2.6 ± 0.2 <sup>b</sup>	88.0 ± 9.3 <sup>c</sup>	27.9 ± 2.4 <sup>a</sup>	48.8 ± 5.7 <sup>ab</sup>	9 ± 1.1 <sup>b</sup>
LED Azul	SIR	1.9 ± 0.1 <sup>d</sup>	58.2 ± 5.3 <sup>d</sup>	15.1 ± 1.4 <sup>d</sup>	29.1 ± 2.8 <sup>d</sup>	6 ± 0.5 <sup>d</sup>
	30s	2.0 ± 0.1 <sup>d</sup>	80.8 ± 5.7 <sup>c</sup>	16.0 ± 0.7 <sup>d</sup>	31.3 ± 1.2 <sup>d</sup>	7 ± 0.3 <sup>cd</sup>
	60s	1.9 ± 0.1 <sup>d</sup>	40.9 ± 5.2 <sup>d</sup>	11.4 ± 0.8 <sup>e</sup>	23.4 ± 1.5 <sup>e</sup>	3 ± 0.5 <sup>e</sup>
	120s	2.5 ± 0.1 <sup>bc</sup>	116.4 ± 5.8 <sup>b</sup>	25.3 ± 0.9 <sup>b</sup>	45.3 ± 1.7 <sup>b</sup>	8 ± 0.4 <sup>bc</sup>
LED Rojo	SIR	1.2 ± 0.04 <sup>f</sup>	16.8 ± 1.4 <sup>f</sup>	7.9 ± 0.4 <sup>g</sup>	12.5 ± 0.6 <sup>f</sup>	2 ± 0.2 <sup>ef</sup>
	30s	1.2 ± 0.03 <sup>f</sup>	25.5 ± 1.0 <sup>ef</sup>	9.9 ± 0.2 <sup>ef</sup>	14.4 ± 0.4 <sup>f</sup>	3 ± 0.1 <sup>ef</sup>
	60s	1.2 ± 0.03 <sup>f</sup>	21.9 ± 1.0 <sup>f</sup>	8.5 ± 0.2 <sup>fg</sup>	12.7 ± 0.4 <sup>f</sup>	2 ± 0.1 <sup>ef</sup>
	120s	1.2 ± 0.04 <sup>f</sup>	22.0 ± 1.1 <sup>f</sup>	7.4 ± 0.3 <sup>g</sup>	13.6 ± 0.5 <sup>f</sup>	2 ± 0.2 <sup>ef</sup>
Control	SIR	1.3 ± 0.03 <sup>f</sup>	18.4 ± 1.0 <sup>f</sup>	8.6 ± 0.4 <sup>fg</sup>	13.6 ± 0.6 <sup>f</sup>	2 ± 0.2 <sup>ef</sup>
	30s	1.2 ± 0.03 <sup>f</sup>	20.1 ± 0.7 <sup>f</sup>	8.5 ± 0.1 <sup>fg</sup>	13.4 ± 0.2 <sup>f</sup>	3 ± 0.2 <sup>ef</sup>
	60s	1.3 ± 0.02 <sup>f</sup>	19.7 ± 0.8 <sup>f</sup>	8.0 ± 0.3 <sup>fg</sup>	13.4 ± 0.4 <sup>f</sup>	2 ± 0.1 <sup>ef</sup>
	120s	1.3 ± 0.04 <sup>f</sup>	16.6 ± 0.7 <sup>f</sup>	7.1 ± 0.3 <sup>g</sup>	12.2 ± 0.4 <sup>f</sup>	1 ± 0.1 <sup>f</sup>

Los datos representan la media ± error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P < 0.05$ ).

Control = Luz Fluorescente; SIR = Semillas no irradiadas; Diam = Diámetro; Long = Longitud

**Cuadro 7.** Caracteres morfológicos de plántulas de chile serrano en Etapa VI, provenientes de semillas sometidas a diferentes dosis de irradiación láser He-Ne, bajo la influencia de diodos emisores de luz (LEDs).

Tratamiento de luz	Tiempo de exposición láser	Diam. tallo (mm)	Long. tallo (mm)	Ancho hoja (mm)	Long. hoja (mm)	Número hojas
<b>LED Blanco</b>	<b>SIR</b>	1.15 ± 0.02 <sup>ab</sup>	24.7 ± 1.1 <sup>efg</sup>	6.4 ± 0.4 <sup>g</sup>	10.5 ± 0.5 <sup>f</sup>	2 ± 0.2 <sup>ef</sup>
	<b>30s</b>	1.19 ± 0.03 <sup>ab</sup>	24.4 ± 1.5 <sup>fg</sup>	9.5 ± 0.7 <sup>de</sup>	14.8 ± 1.1 <sup>de</sup>	3 ± 0.3 <sup>cd</sup>
	<b>60s</b>	1.02 ± 0.03 <sup>b</sup>	14.3 ± 0.8 <sup>h</sup>	5.0 ± 0.3 <sup>h</sup>	9.0 ± 0.7 <sup>g</sup>	2 ± 0.1 <sup>f</sup>
	<b>120s</b>	1.08 ± 0.02 <sup>ab</sup>	18.8 ± 1.2 <sup>gh</sup>	6.7 ± 0.4 <sup>g</sup>	11.6 ± 0.3 <sup>f</sup>	2 ± 0.2 <sup>ef</sup>
<b>LED Azul</b>	<b>SIR</b>	1.22 ± 0.03 <sup>ab</sup>	32.9 ± 1.5 <sup>de</sup>	11.6 ± 0.4 <sup>c</sup>	19.2 ± 1.1 <sup>c</sup>	4 ± 0.3 <sup>bc</sup>
	<b>30s</b>	1.34 ± 0.05 <sup>ab</sup>	43.5 ± 4.2 <sup>bc</sup>	14.0 ± 0.7 <sup>b</sup>	21.4 ± 1.2 <sup>b</sup>	5 ± 0.3 <sup>b</sup>
	<b>60s</b>	1.32 ± 0.02 <sup>ab</sup>	32.4 ± 1.7 <sup>ef</sup>	11.0 ± 0.4 <sup>c</sup>	18.9 ± 0.7 <sup>c</sup>	4 ± 0.3 <sup>bcd</sup>
	<b>120s</b>	1.25 ± 0.03 <sup>ab</sup>	40.7 ± 1.9 <sup>cd</sup>	15.1 ± 0.4 <sup>a</sup>	23.6 ± 0.5 <sup>a</sup>	6 ± 0.2 <sup>a</sup>
<b>LED Rojo</b>	<b>SIR</b>	1.11 ± 0.03 <sup>ab</sup>	54.3 ± 1.9 <sup>a</sup>	10.9 ± 0.3 <sup>c</sup>	19.3 ± 0.7 <sup>c</sup>	3 ± 0.3 <sup>cd</sup>
	<b>30s</b>	1.14 ± 0.03 <sup>ab</sup>	50.3 ± 1.6 <sup>ab</sup>	11.2 ± 0.3 <sup>c</sup>	18.1 ± 0.6 <sup>c</sup>	4 ± 0.2 <sup>bcd</sup>
	<b>60s</b>	1.14 ± 0.04 <sup>ab</sup>	50.6 ± 1.6 <sup>ab</sup>	11.7 ± 0.3 <sup>c</sup>	18.6 ± 0.6 <sup>c</sup>	4 ± 0.1 <sup>cd</sup>
	<b>120s</b>	1.49 ± 0.04 <sup>a</sup>	45.4 ± 1.5 <sup>bc</sup>	11.5 ± 0.3 <sup>c</sup>	18.4 ± 0.8 <sup>c</sup>	4 ± 0.2 <sup>cd</sup>
<b>Control</b>	<b>SIR</b>	1.16 ± 0.03 <sup>ab</sup>	21.1 ± 1.3 <sup>gh</sup>	8.6 ± 0.3 <sup>ef</sup>	14.7 ± 0.5 <sup>de</sup>	3 ± 0.3 <sup>de</sup>
	<b>30s</b>	1.10 ± 0.02 <sup>ab</sup>	18.4 ± 0.8 <sup>gh</sup>	8.0 ± 0.3 <sup>f</sup>	13.7 ± 0.6 <sup>e</sup>	4 ± 0.2 <sup>cd</sup>
	<b>60s</b>	1.20 ± 0.02 <sup>ab</sup>	21.6 ± 0.9 <sup>gh</sup>	9.7 ± 0.6 <sup>d</sup>	18.1 ± 0.8 <sup>c</sup>	4 ± 0.2 <sup>bcd</sup>
	<b>120s</b>	1.21 ± 0.03 <sup>ab</sup>	22.5 ± 0.9 <sup>gh</sup>	8.5 ± 0.2 <sup>ef</sup>	15.4 ± 0.4 <sup>d</sup>	4 ± 0.2 <sup>cd</sup>

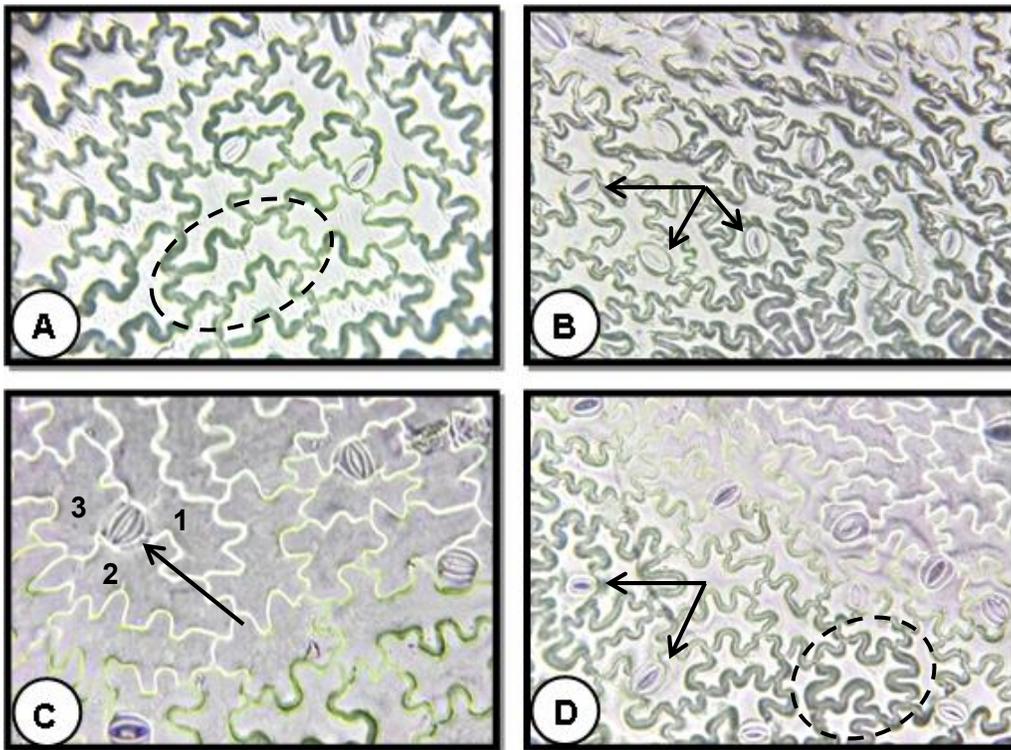
Los datos representan la media ± error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P < 0.05$ ).

Control = Luz Fluorescente; SIR = Semillas no irradiadas; Diam = Diámetro; Long = Longitud

## 8.4.2 Anatomía e histoquímica de plántulas

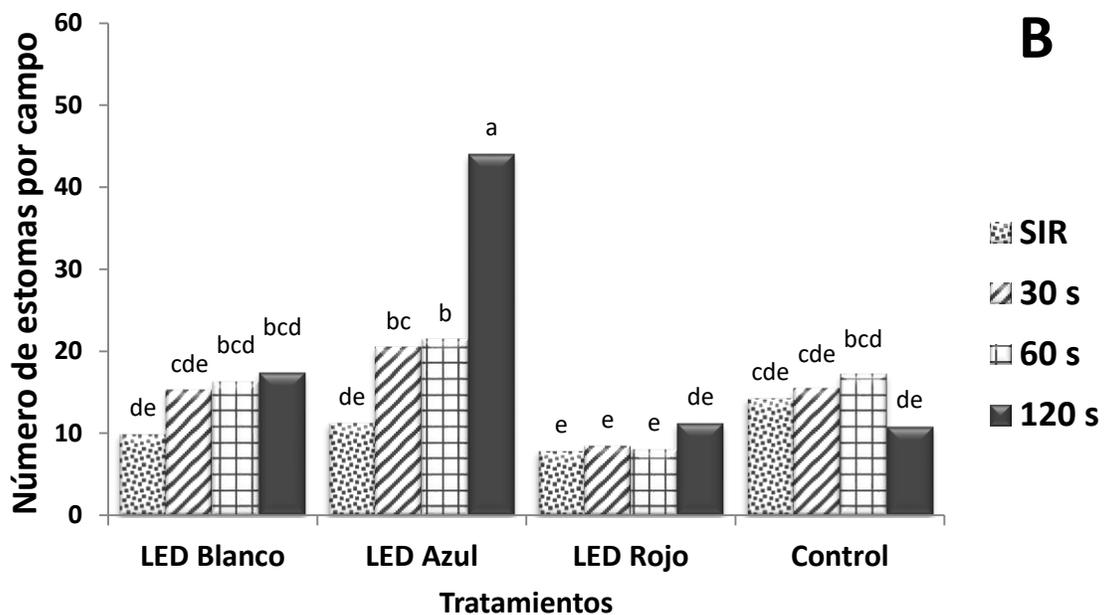
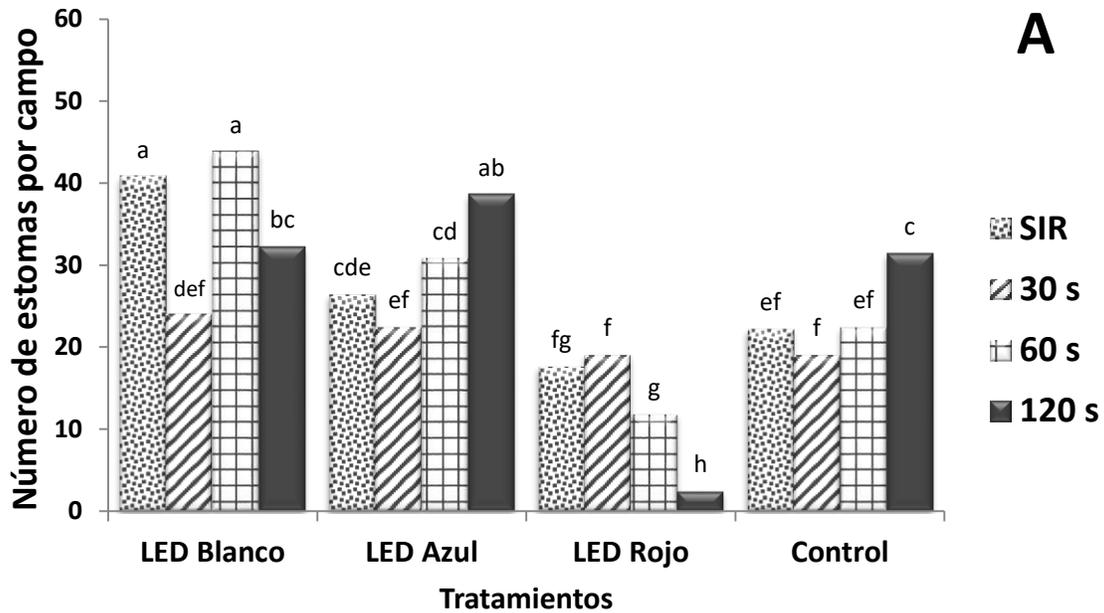
### 8.4.2.1 Número de estomas en la epidermis

La epidermis foliar de las dos variedades de chile estudiadas mostró células epidérmicas con paredes onduladas; las células de la superficie adaxial se observan más grandes pero en menor cantidad (Fig. 13 A y C) que las células abaxiales (Fig. 13 B y D). La presencia de estomas anisocíticos (rodeados por tres células guarda) en ambas superficies de las hojas de *Capsicum annuum* las clasificó como anfistomáticas (Figura 13).



**Figura 13.** Micrografía de la epidermis de *Capsicum annuum* var. poblano (haz **A**; envés **B**) y serrano (haz **C**; envés **D**) en vista superficial. Estomas (flechas) y Células epidérmicas (----); Aumento 40X.

En lo que refiere al número de estomas, las hojas de las plántulas en invernadero de las dos variedades, poblano y serrano, presentaron un valor máximo de 44 estomas por campo (Fig. 14). En la variedad de chile poblano se observó que el tratamiento con 60 s de láser combinado con luz LED blanca propició un número mayor de estomas (Fig. 14 A), mientras que en la variedad de chile serrano la cantidad de estomas fue favorecida por el tratamiento de luz azul junto con la dosis de 120 s de irradiación (Fig. 14 B).



**Figura 14.** Número de estomas en el envés de las hojas de chile poblano **(A)** y serrano **(B)** en Etapa VI, provenientes de semillas sometidas a diferentes dosis de irradiación láser He-Ne y bajo la influencia de diodos emisores de luz (LEDs). Los datos representan la media. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P < 0.05$ ). Control = Luz Fluorescente; SIR = Semillas no irradiadas

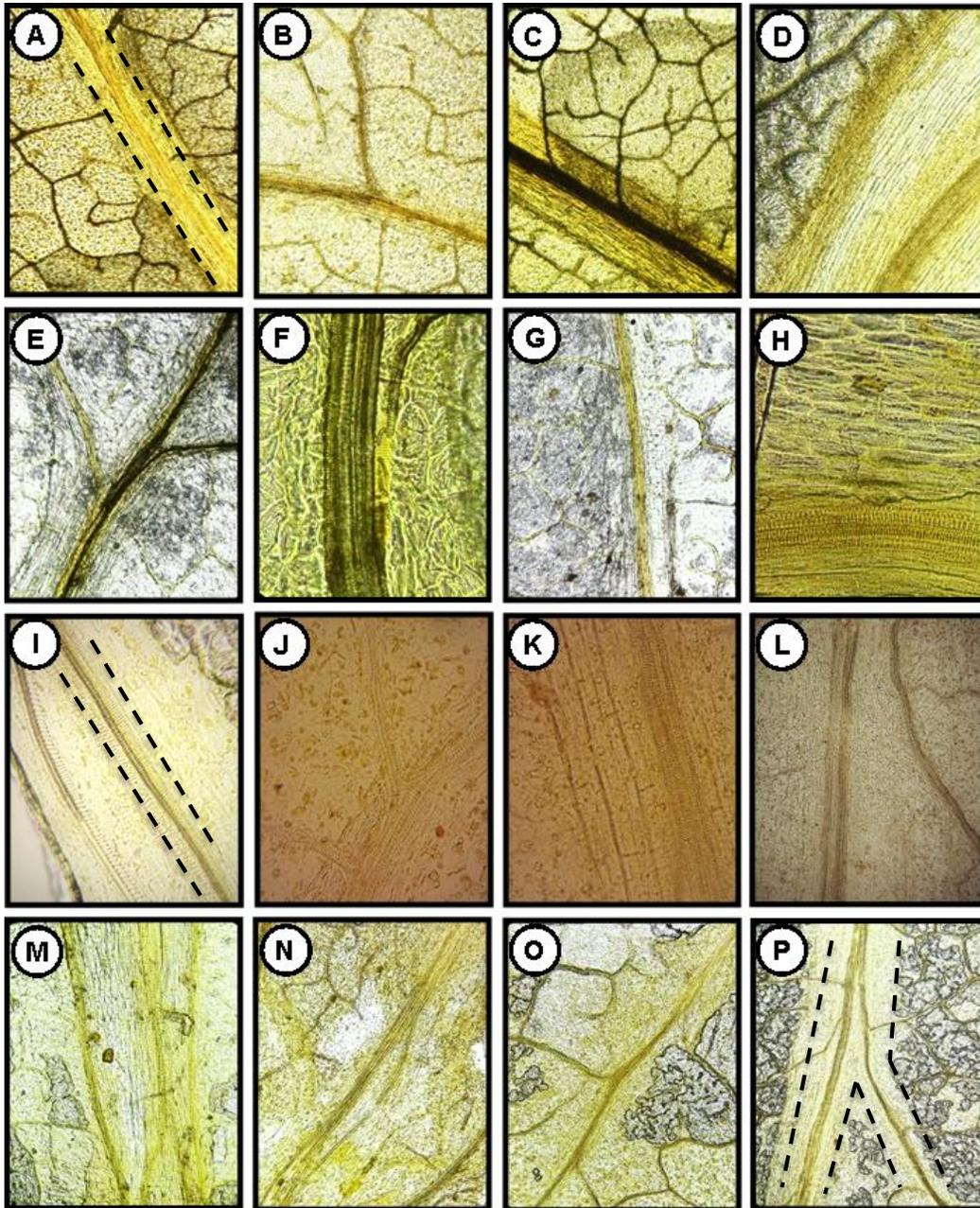
#### 8.4.2.2 Estructura y composición celular de las plántulas

El estudio de la estructura interna de las plántulas de las dos variedades de *Capsicum annuum* procedentes de los tratamientos de irradiación láser y/o luz LED demostró la ausencia de alguna alteración anatómica visible. Se pudo apreciar la presencia de haces vasculares en desarrollo (Fig. 15 y 16).

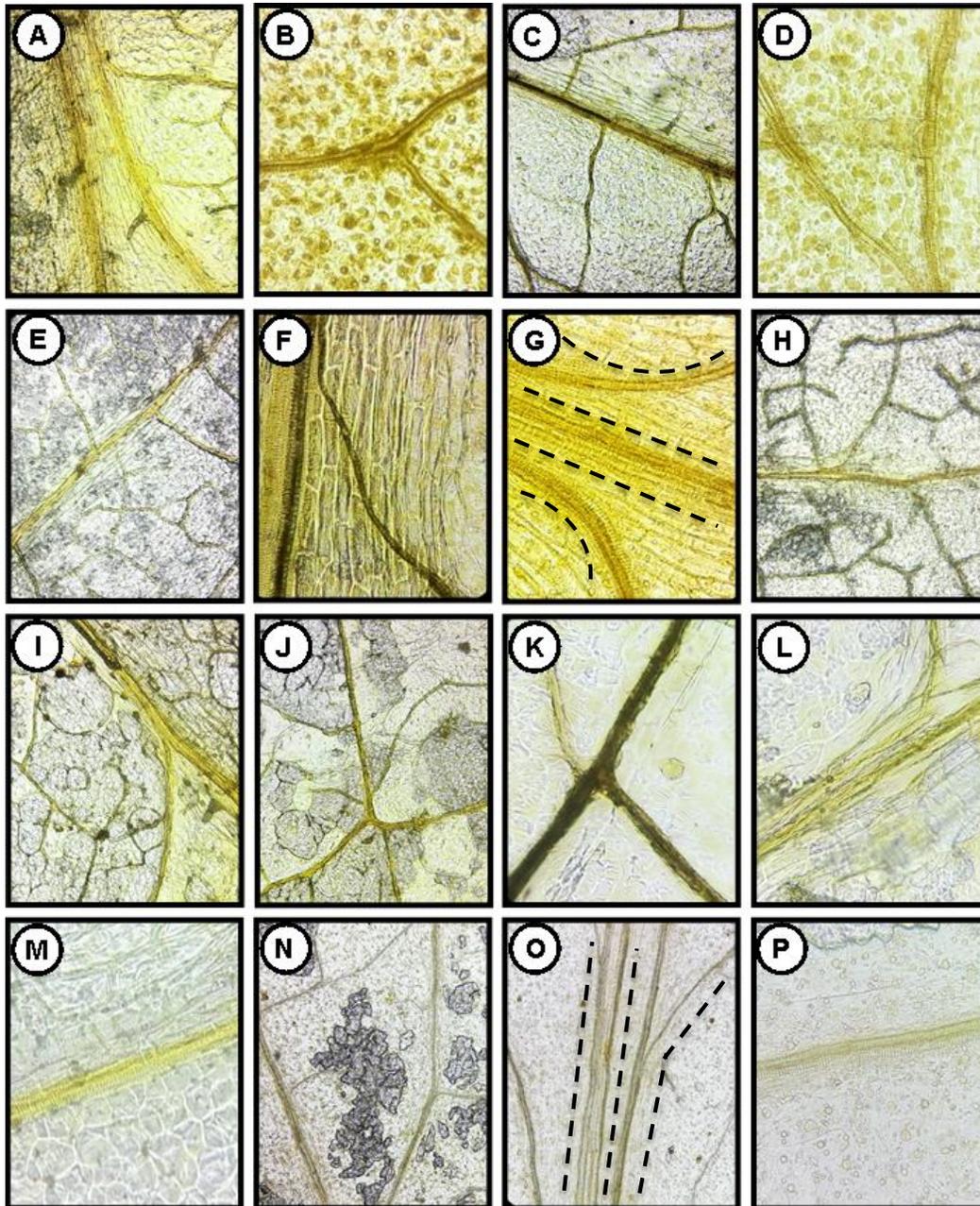
En vista superficial de la hoja de *Capsicum annuum* se observó la presencia de cúmulos o gránulos de almidón (Fig. 17 y 18) y lípidos (Fig. 19 y 20). La tinción con lugol destacó la presencia de almidón en las hojas en cada uno de los tratamientos; cualitativamente sobresalieron los tratamientos de irradiación láser He-Ne combinados con luz LED azul en la variedad serrano ya que mostraron la mayor concentración celular de almidón (Fig. 18 E-H), mientras que para el chile poblano no se observó diferencia entre tratamientos (Fig. 17). Por otro lado, los lípidos se pueden presentar en forma de pequeñas gotas de aceite (esferosomas) o acumulaciones, los cuales se tiñen de color naranja-rojizo; se presentaron de forma similar en todos los tratamientos, tanto para las plántulas de chile poblano (Fig. 19) como para las de chile serrano (Fig. 20).

Una reacción intensa de las proteínas a la tinción con azul negro de naftol, se observó en las paredes y citoplasma de las células foliares, lo que produjo un color homogéneo en todo el tejido por su abundancia (Fig. 21 y 22). Para la variedad de chile poblano, los tratamientos de 30 y 60 segundos de irradiación con luz azul no mostraron resultados favorables ante esta tinción, lo mismo que el control (Fig. 21 E-G).

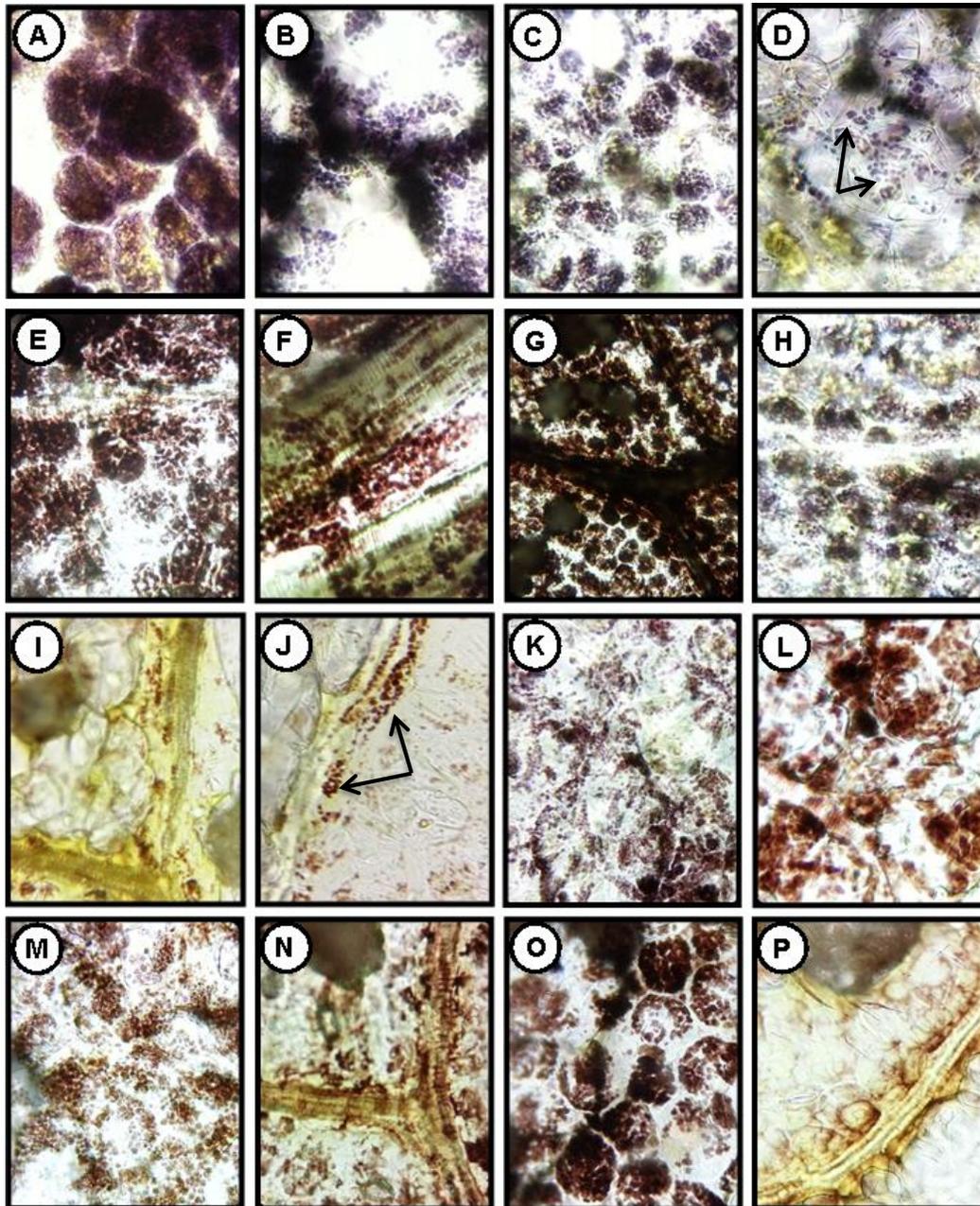
Los carbohidratos se logran apreciar de color rosa-magenta gracias a la tinción con el reactivo de Schiff, destacándose en todas las estructuras celulares (Fig. 23 y 24). En ambas variedades (poblano y serrano), las hojas con los tratamientos de luz fluorescente fueron las que presentaron una menor coloración, respecto a las plántulas tratadas con LEDs; se distinguió el tratamiento de 30 s con luz fluorescente de la variedad serrano, como el único con ausencia de polisacáridos (Fig. 24 N). Se destacó además, la presencia de inclusiones celulares cristalinas de forma más o menos esféricas, que corresponden a cristales de oxalato de calcio (Figuras 23H y 24O).



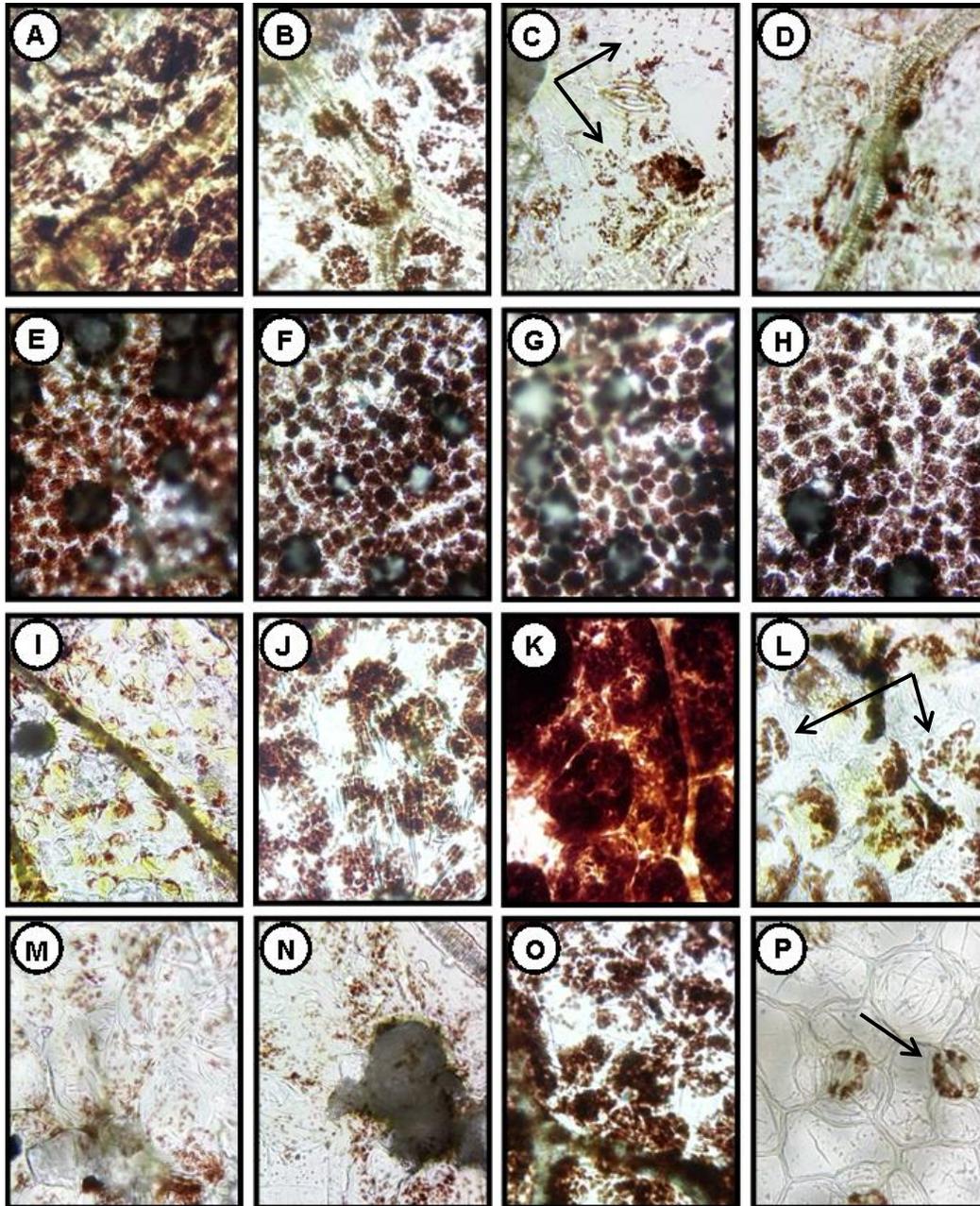
**Figura 15.** Vista superficial de las hojas de *Capsicum annum* var. poblano, provenientes de semillas tratadas con láser y/o LEDs vs. control. Se observan los haces vasculares (----) teñidos con floroglucinol, el desarrollo del tejido vegetal se presenta en todas las plántulas. **A**-0 s, **B**-30 s, **C**-60 s, **D**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs blancos; **E**-0 s, **F**-30 s, **G**-60 s, **H**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs azules; **I**-0 s, **J**-30 s, **K**-60 s, **L**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs rojos; **M**-0 s, **N**-30 s, **O**-60 s, **P**-120 s de irradiación láser He-NE combinados con luz fluorescente. Aumentos A-E, G, L-P: 10X; F, H-K: 40X.



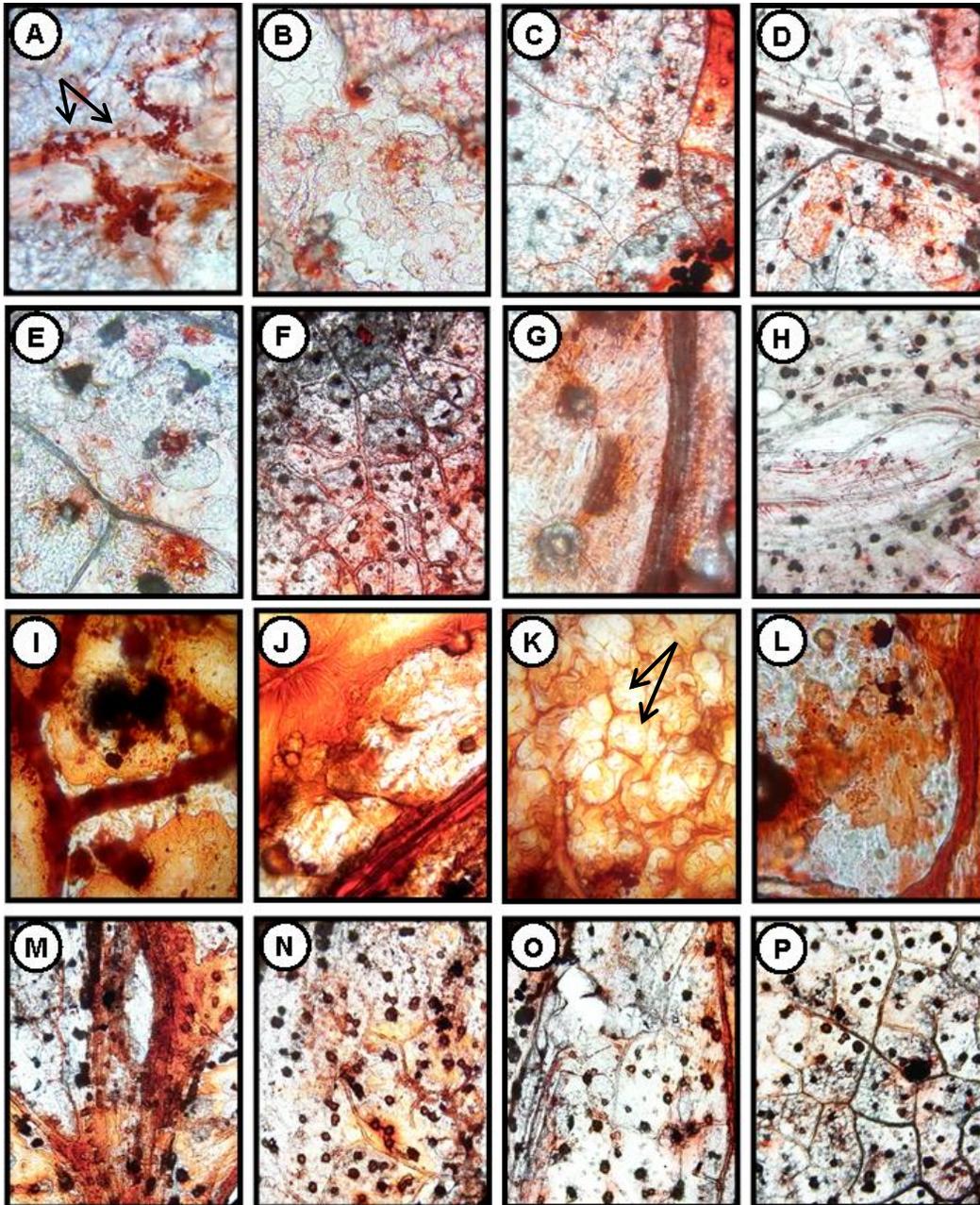
**Figura 16.** Vista superficial de las hojas de *Capsicum annuum* var. serrano, provenientes de semillas tratadas con láser y/o LEDs vs. control. Se observan los haces vasculares (----) teñidos con floroglucinol. **A-0 s, B-30 s, C-60 s, D-120 s** de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs blancos; **E-0 s, F-30 s, G-60 s, H-120 s** de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs azules; **I-0 s, J-30 s, K-60 s, L-120 s** de irradiación láser He-NE combinados con LEDs rojos; **M-0 s, N-30 s, O-60 s, P-120 s** de irradiación láser He-Ne combinados con luz fluorescente. Aumentos A, C, E, H, I, J, N, O: 10X; B, D, F, G, K, L, M, P: 40X.



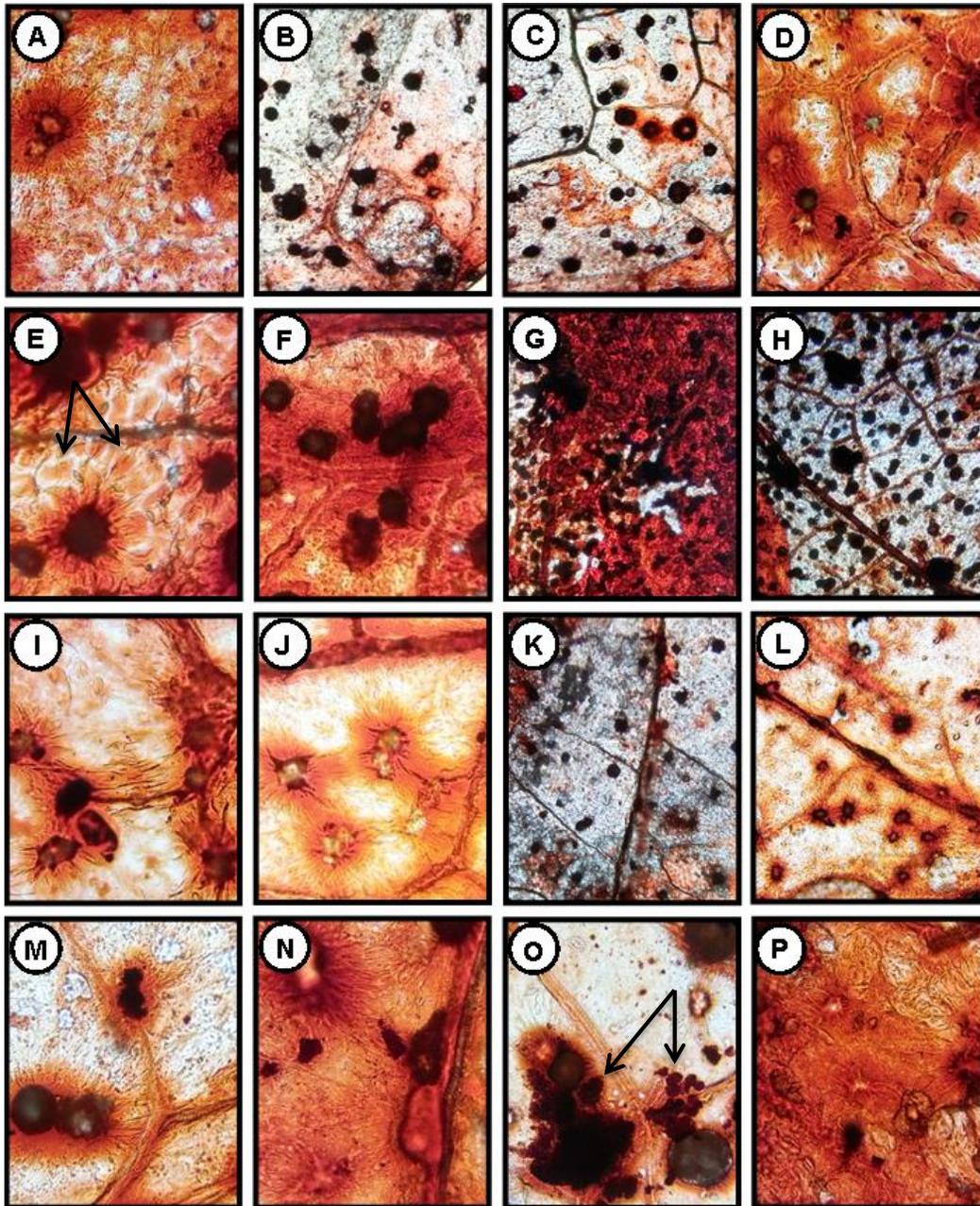
**Figura 17.** Vista superficial de las hojas de *Capsicum annuum* var. poblano, provenientes de semillas tratadas con láser y/o LEDs vs. control, mostrando gránulos de almidón teñidos con lugol (flechas). Los tratamientos de luz láser y LEDs fueron favorables para la acumulación de almidón, ya que está presente en cada una de las hojas. **A**-0 s, **B**-30 s, **C**-60 s, **D**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs blancos; **E**-0 s, **F**-30 s, **G**-60 s, **H**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs azules; **I**-0 s, **J**-30 s, **K**-60 s, **L**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs rojos; **M**-0 s, **N**-30 s, **O**-60 s, **P**-120 s de irradiación láser He-NE combinados con luz fluorescente. Aumentos A-F, H-P: 100X; G: 40X.



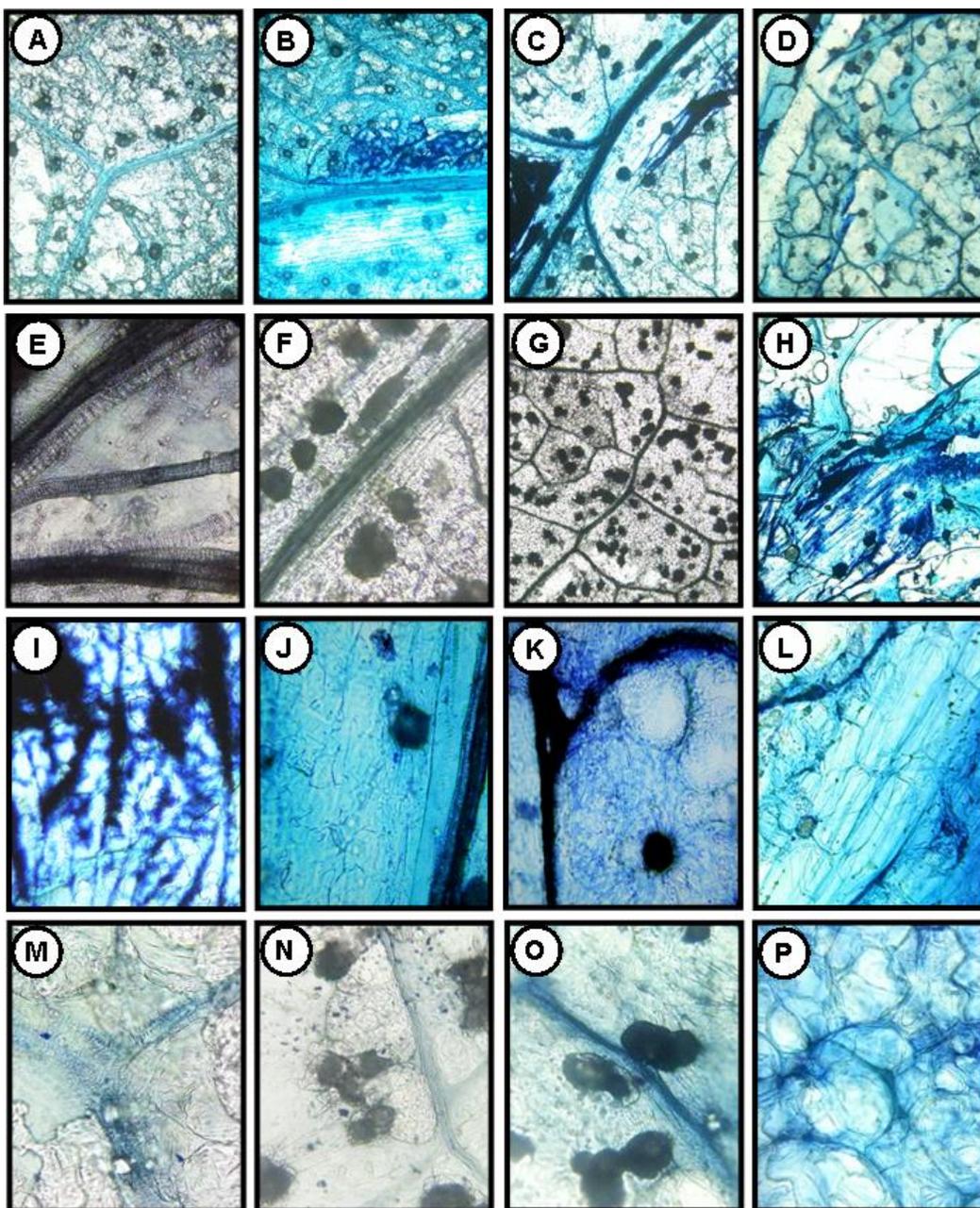
**Figura 18.** Vista superficial de las hojas de *Capsicum annuum* var. serrano, provenientes de semillas tratadas con láser y/o LEDs vs. control, mostrando gránulos de almidón teñidos con lugol (flechas). Note que en los tratamientos E-H se observa una mayor acumulación de almidón. **A-0 s, B-30 s, C-60 s, D-120 s** de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs blancos; **E-0 s, F-30 s, G-60 s, H-120 s** de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs azules; **I-0 s, J-30 s, K-60 s, L-120 s** de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs rojos; **M-0 s, N-30 s, O-60 s, P-120 s** de irradiación láser He-NE combinados con luz fluorescente. Aumentos A-D, J-P: 100X; E-I: 40X.



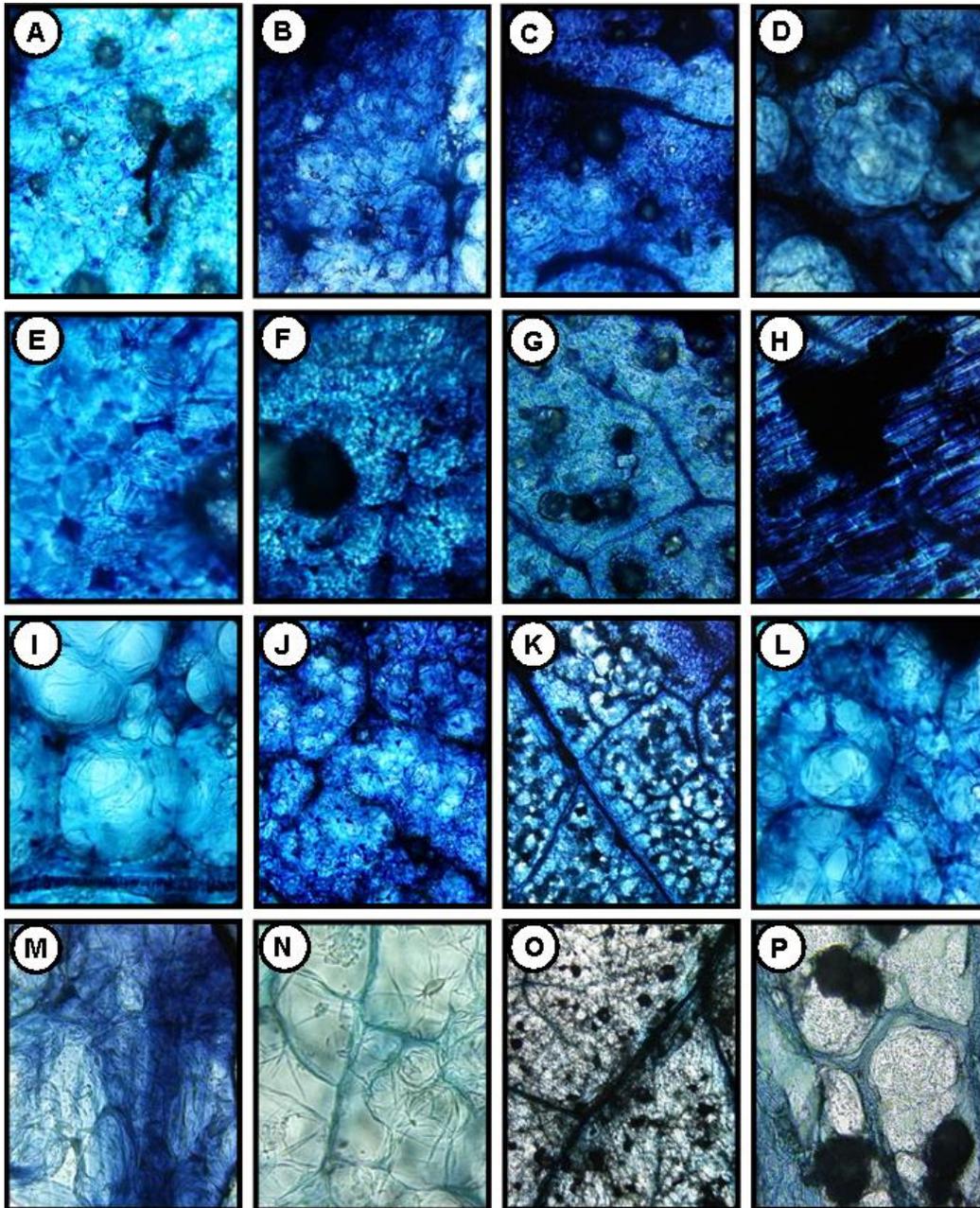
**Figura 19.** Vista superficial de las hojas de *Capsicum annum* var. poblano, provenientes de semillas tratadas con láser y/o LEDs vs. control. Se aprecia la acumulación de lípidos (flechas) teñidos con Sudan IV. Los tratamientos de luz LED combinados con láser favorecieron la presencia de cuerpos lipídicos en comparación con los tratamientos de luz fluorescente. **A**-0 s, **B**-30 s, **C**-60 s, **D**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs blancos; **E**-0 s, **F**-30 s, **G**-60 s, **H**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs azules; **I**-0 s, **J**-30 s, **K**-60 s, **L**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs rojos; **M**-0 s, **N**-30 s, **O**-60 s, **P**-120 s de irradiación láser He-NE combinados con luz fluorescente. Aumentos A: 100X; B, E, G, I-L: 40X; C, D, F, H, M-P: 10X.



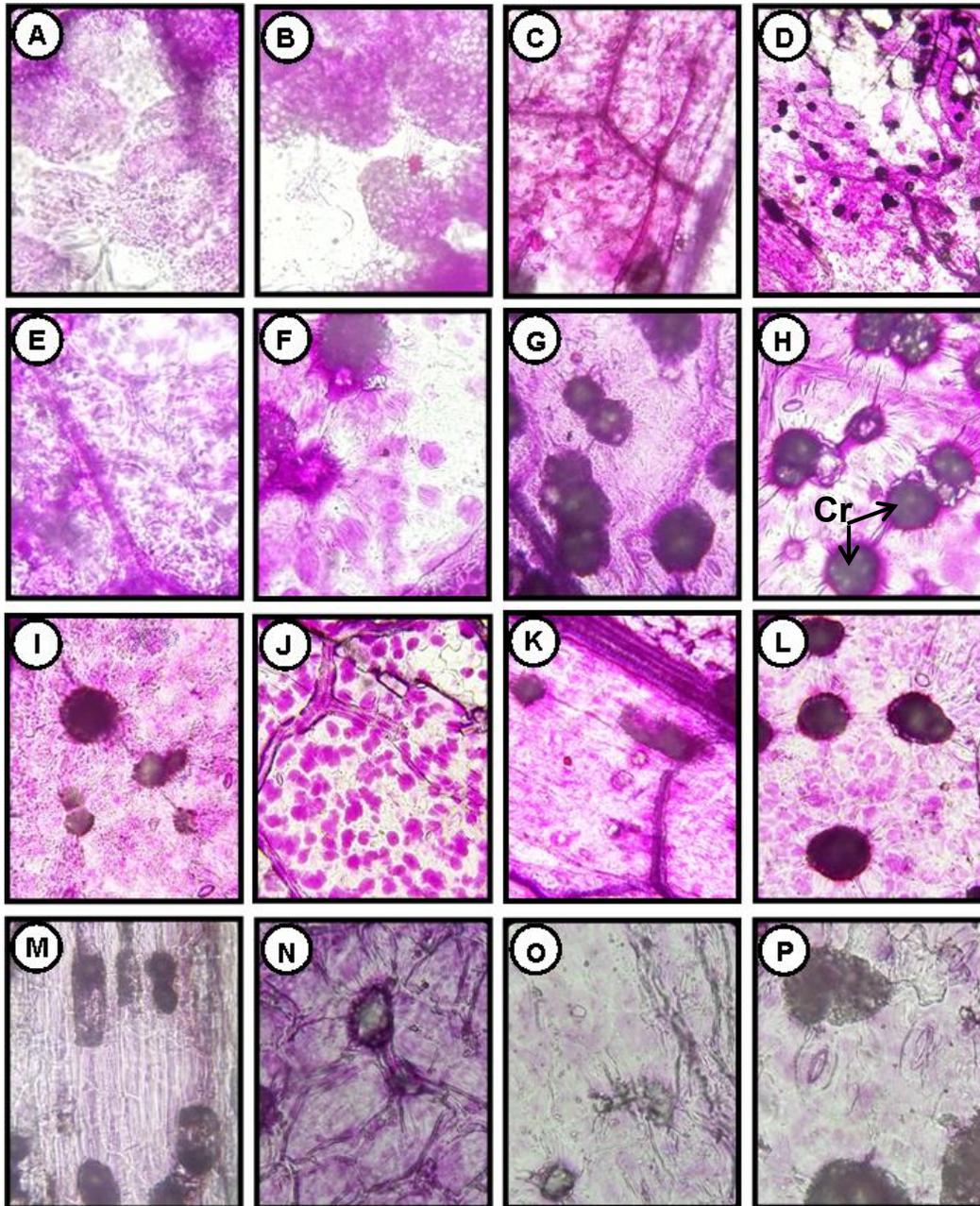
**Figura 20.** Vista superficial de las hojas de *Capsicum annuum* var. serrano, provenientes de semillas tratadas con láser y/o LEDs vs. Control. La presencia de cuerpos lipídicos (flechas) se aprecia por la tinción con Sudan IV. **A**-0 s, **B**-30 s, **C**-60 s, **D**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs blancos; **E**-0 s, **F**-30 s, **G**-60 s, **H**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs azules; **I**-0 s, **J**-30 s, **K**-60 s, **L**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs rojos; **M**-0 s, **N**-30 s, **O**-60 s, **P**-120 s de irradiación láser He-NE combinados con luz fluorescente. Aumentos A, D, E, F, I, J, M-P: 40X; B, C, G, H, K, L: 10X.



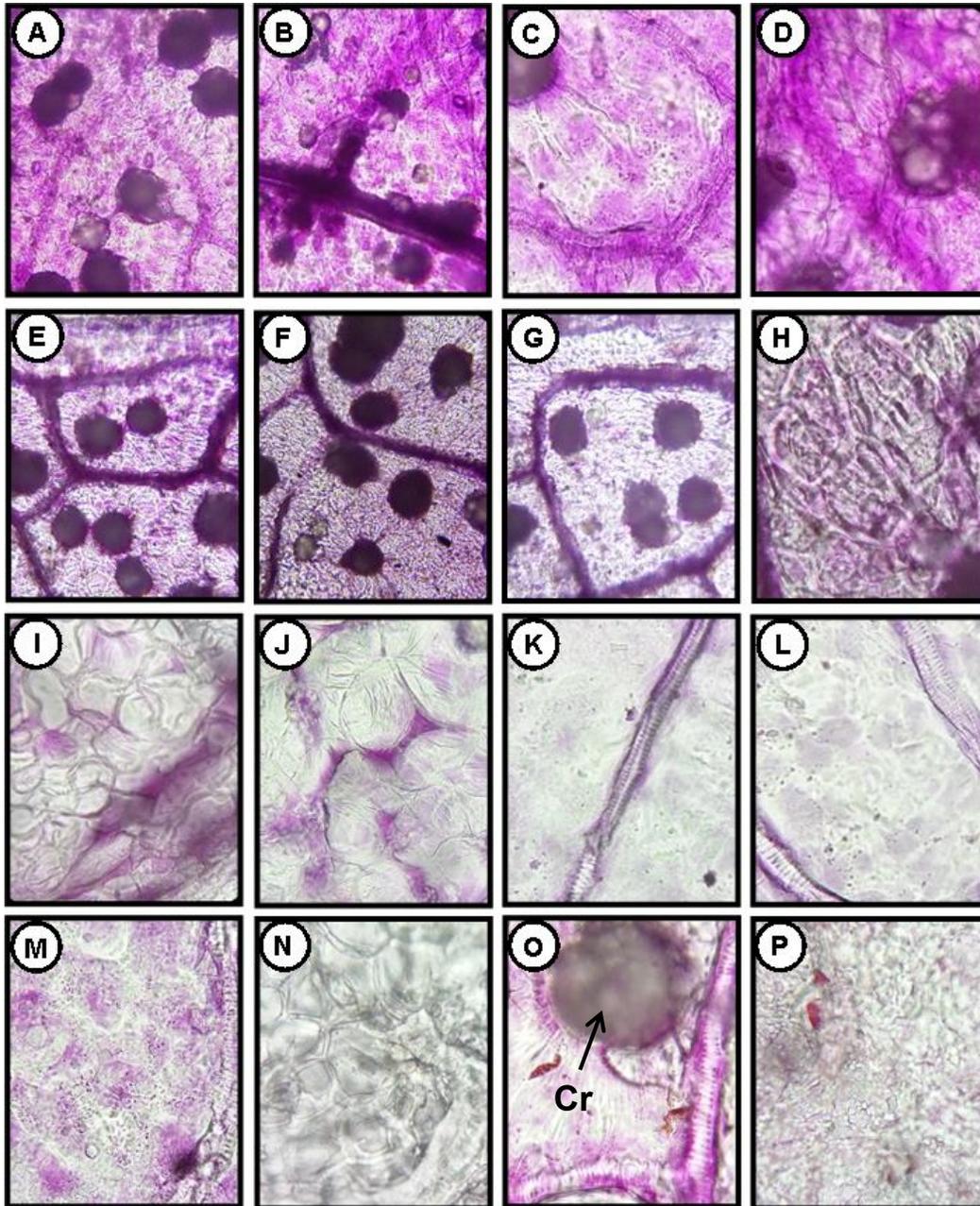
**Figura 21.** Vista superficial de las hojas de *Capsicum annum* var. poblano, provenientes de semillas tratadas con láser y/o LEDs vs. control; teñidas con azul negro naftol para visualizar proteínas (color azul). Nótese la ausencia de proteínas en los tratamientos 0, 30 y 60 s de láser en combinación con LED azul. **A-0 s, B-30 s, C-60 s, D-120 s** de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs blancos; **E-0 s, F-30 s, G-60 s, H-120 s** de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs azules; **I-0 s, J-30 s, K-60 s, L-120 s** de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs rojos; **M-0 s, N-30 s, O-60 s, P-120 s** de irradiación láser He-NE combinados con luz fluorescente. Aumentos A-D, G, H: 10X; E, F, I-L: 40X; M, P: 100X.



**Figura 22.** Vista superficial de las hojas de *Capsicum annuum* var. serrano, provenientes de semillas tratadas con láser y/o LEDs vs. Control; teñidas con azul negro de naftol para visualizar proteínas (color azul). La presencia de proteínas se muestra en todos los tratamientos. **A**-0 s, **B**-30 s, **C**-60 s, **D**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs blancos; **E**-0 s, **F**-30 s, **G**-60 s, **H**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs azules; **I**-0 s, **J**-30 s, **K**-60 s, **L**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs rojos; **M**-0 s, **N**-30 s, **O**-60 s, **P**-120 s de irradiación láser He-NE combinados con luz fluorescente. Aumentos A-C, G, H, J, M, P: 40X; D-F, I, L, N: 100X; K, O: 10X.



**Figura 23.** Vista superficial de las hojas de *Capsicum annum* var. poblano, provenientes de semillas tratadas con láser y/o LEDs vs. control. La presencia de polisacáridos (color rosa-magenta) se observa al teñir con reactivo de Schiff los tejidos. La tinción es más notoria en las plántulas que se estimularon con diodos emisores de luz junto con las distintas dosis de irradiación láser. Note la abundancia de cristales (Cr). **A**-0 s, **B**-30 s, **C**-60 s, **D**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs blancos; **E**-0 s, **F**-30 s, **G**-60 s, **H**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs azules; **I**-0 s, **J**-30 s, **K**-60 s, **L**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs rojos; **M**-0 s, **N**-30 s, **O**-60 s, **P**-120 s de irradiación láser He-NE combinados con luz fluorescente. Aumentos A, B, E-G, N-P: 100X; C, H-M: 40X; D: 10X.



**Figura 24.** Vista superficial de las hojas de *Capsicum annuum* var. serrano, provenientes de semillas tratadas con láser y/o LEDs vs. control. La presencia de polisacáridos (color rosa-magenta) se observa al teñir los tejidos con reactivo de Schiff; el tratamiento N es el único en dar negativo a la tinción. Note la abundancia de cristales (Cr). **A**-0 s, **B**-30 s, **C**-60 s, **D**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs blancos; **E**-0 s, **F**-30 s, **G**-60 s, **H**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs azules; **I**-0 s, **J**-30 s, **K**-60 s, **L**-120 s de irradiación láser He-Ne combinados con LEDs rojos; **M**-0 s, **N**-30 s, **O**-60 s, **P**-120 s de irradiación láser He-NE combinados con luz fluorescente. Aumentos A, B, E-G: 40X; C, D, H-P: 100X.

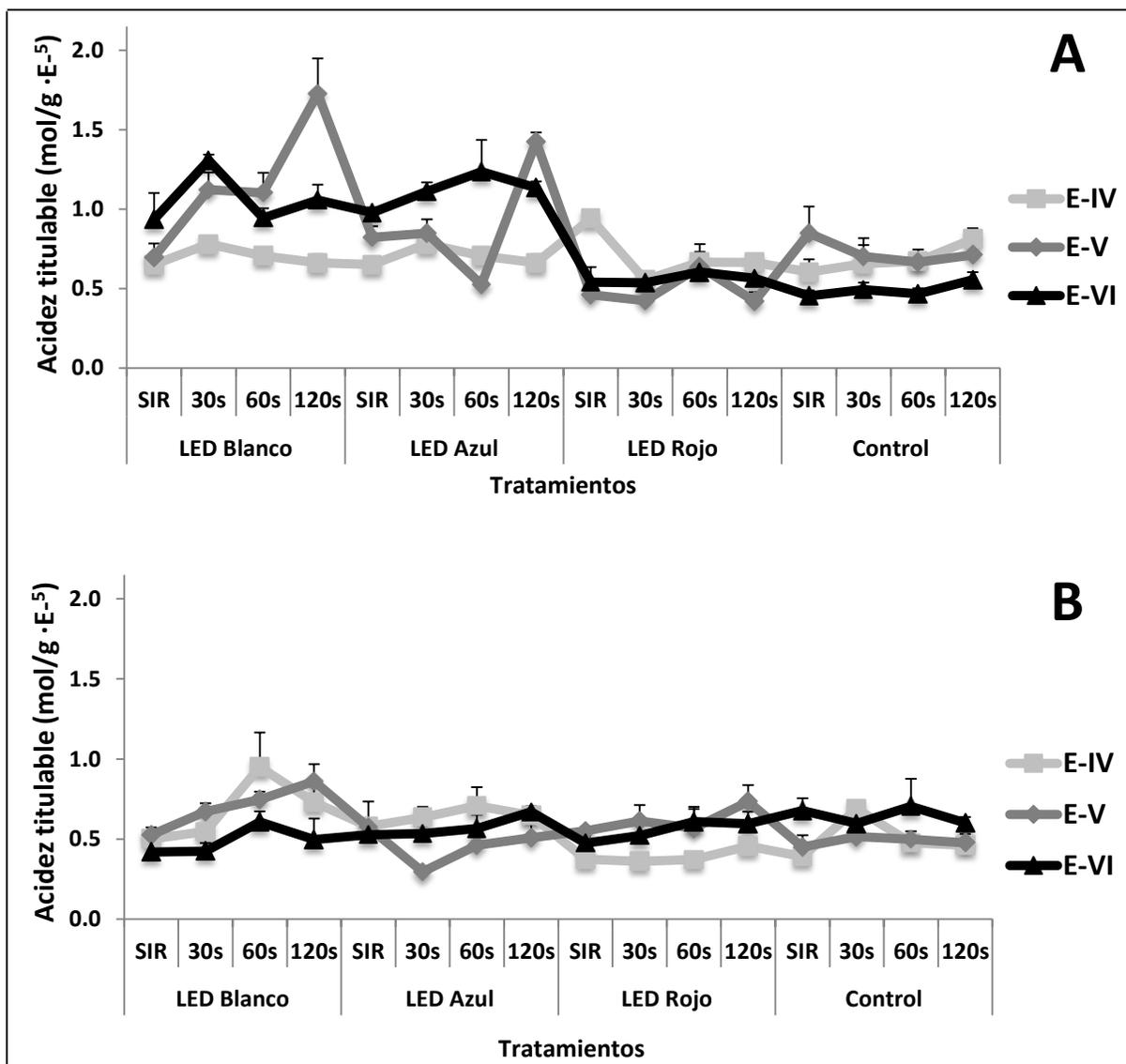
### 8.4.3 Fisiología de plántulas

#### 8.4.3.1 Protones titulables

Se analizó la cantidad de protones titulables de las dos variedades de *Capsicum annuum* en las etapas IV, V y VI de invernadero; para determinar el estado fisiológico de las plántulas de acuerdo a la concentración de ácidos orgánicos presentes en sus células (Figura 25).

De acuerdo con los resultados, el chile poblano presentó los valores más altos de acidez titulable con los tratamientos de luz LED blanca y azul cuando se combinaron con 120 s de luz láser He-Ne, en las tres etapas de crecimiento analizadas. Los valores máximos se registraron en la etapa V con  $1.73 \times 10^{-5}$  y  $1.43 \times 10^{-5}$  mol/g para luz blanca y azul, respectivamente (Figura 25 A). Se logró apreciar, además, fluctuaciones que se presentan entre los primeros 8 tratamientos, ya que el resto se mantienen casi constantes y por debajo de los primeros (Fig. 25 A).

En contraste, en la variedad de chile serrano, la concentración de ácido oscila entre  $0.3 \times 10^{-5}$  y  $0.95 \times 10^{-5}$  mol/g, muy por debajo del chile poblano. Sin embargo, no es claro el efecto de los tratamientos de irradiación y diodos emisores de luz sobre esta variable, debido a que no hay una diferencia entre ellos en ninguna de las etapas analizadas. No obstante, los tratamientos de 60 y 120 s de irradiación láser junto con luz LED blanca presentaron los valores máximos, similar a lo ocurrido con la variedad poblano (Fig. 25 B).



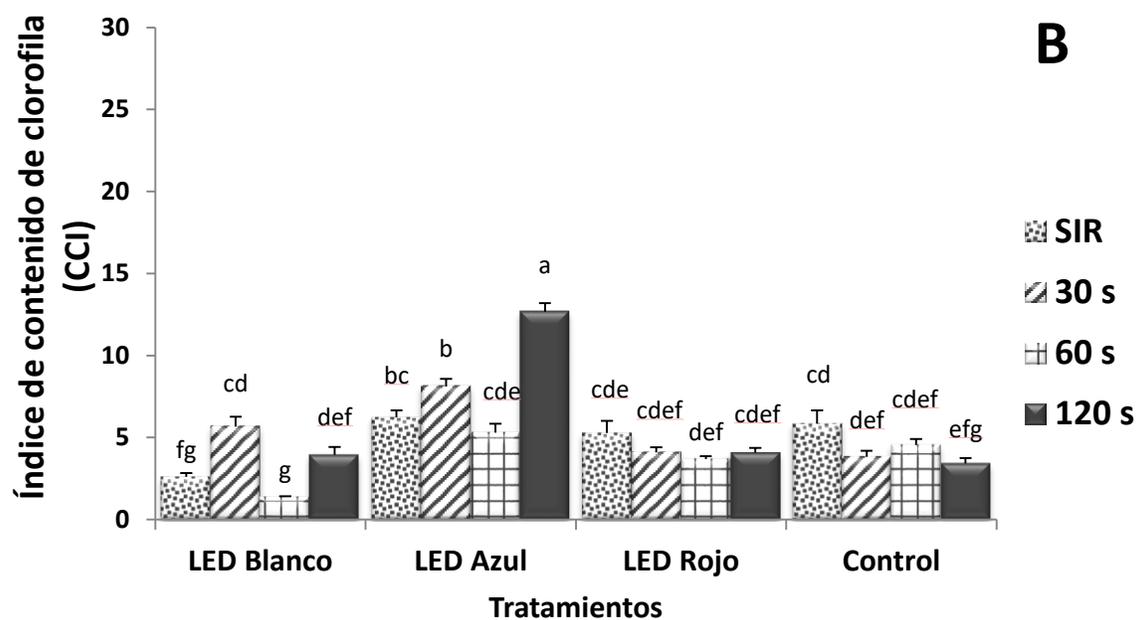
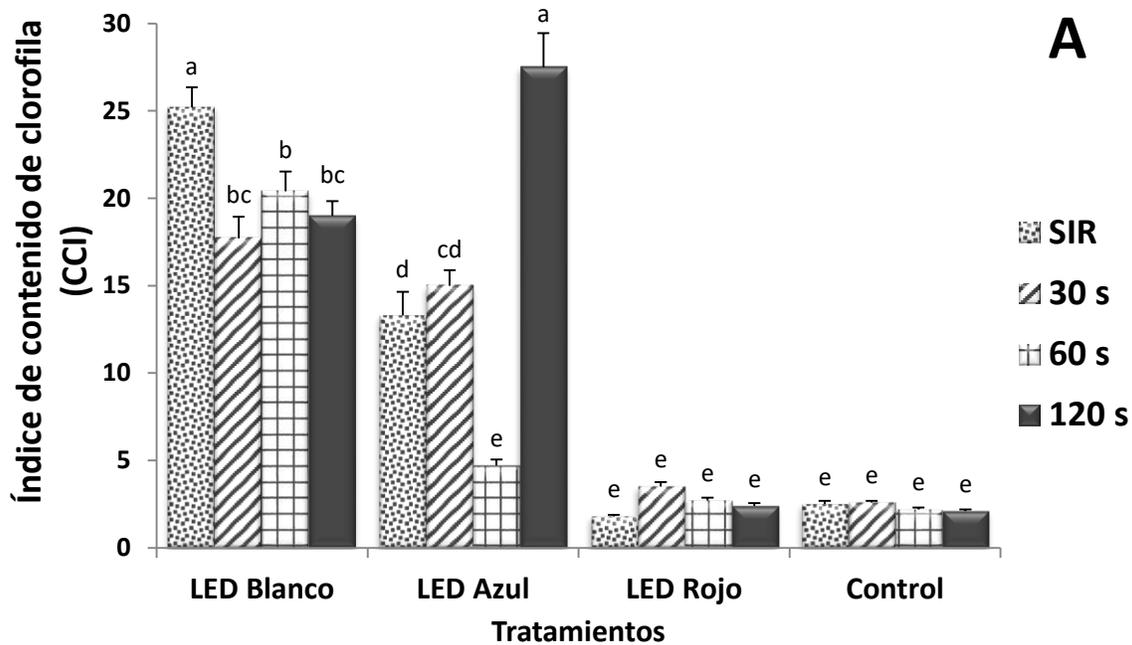
**Figura 25.** Protones titulables en plantas de chile poblano (**A**) y serrano (**B**) en las Etapas IV, V y VI, provenientes de semillas sometidas a diferentes dosis de irradiación láser He-Ne y bajo la influencia de LEDs. Los datos representan la media  $\pm$  error estándar. Control = Luz Fluorescente; SIR = Semillas no irradiadas

#### 8.4.3.2 Índice de contenido de clorofila

Similar a lo observado en el análisis realizado en condiciones de laboratorio, el ICC de las hojas de *Capsicum annuum* con los tratamientos de luz LED y láser, fue mayor que en las plantas control (Fig. 26).

Como se muestra en la Figura 26 A, el índice de contenido de clorofila del chile poblano fue más alto en las plantas bajo 120 s de láser y luz azul, igualmente favorecido que las plantas cultivadas bajo luz blanca sin irradiación láser; de forma semejante, los tratamientos de 30, 60 y 120 s de irradiación láser combinados con luz blanca, obtuvieron resultados favorables. En contraste, los tratamientos con luz LED roja y luz fluorescente no fueron benéficos para esta variable (Fig. 26A). Este comportamiento es similar a lo observado en la etapa II (Figura 12 A).

Las plantas de chile serrano cultivadas bajo luz LED azul mostraron el mayor índice de contenido de clorofila; el tiempo de irradiación de 120 s es el que se destacó en esta ocasión con 12.7 CCI, seguido por las plantas con 30 s de irradiación, también bajo luz azul con un valor de 8.1 CCI, y las más bajas ocurrieron en plantas cultivadas bajo luz blanca y 30 s de láser He-Ne (Fig. 26 B). Entre los tratamientos de luz LED roja y luz fluorescente no se encontraron diferencias significativas (Figura 26 B).



**Figura 26.** Índice de contenido de clorofila de plantas de chile poblano **(A)** y serrano **(B)** en la Etapa VI, provenientes de semillas sometidas a diferentes dosis de irradiación láser He-Ne y bajo la influencia de diodos emisores de luz (LEDs). Los datos representan la media  $\pm$  desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey;  $P < 0.05$ ).

Control = Luz Fluorescente; SIR = Semillas no irradiadas

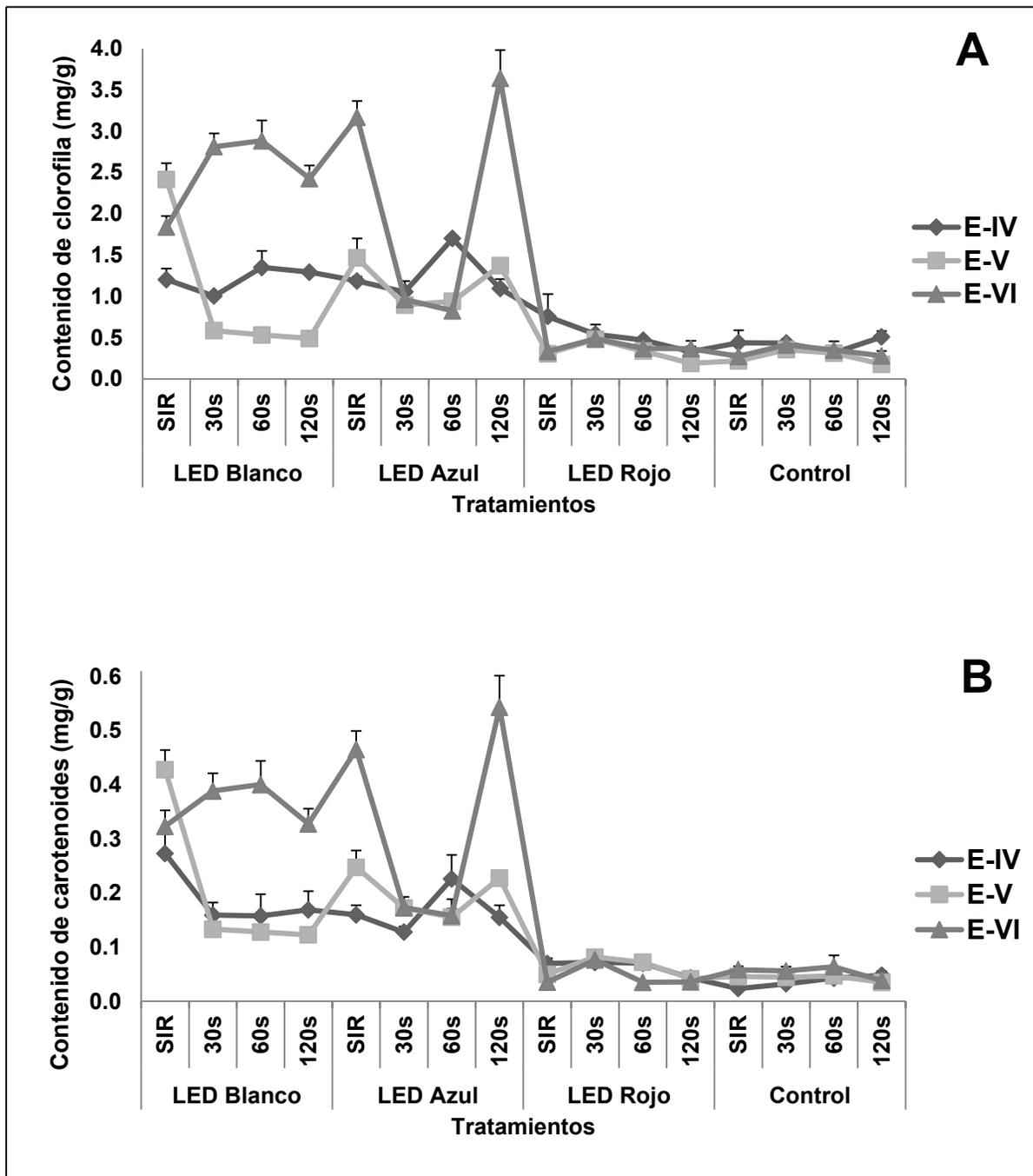
#### 8.4.3.3 Contenido de pigmentos fotosintéticos

Se observó un aumento en la concentración de pigmentos fotosintéticos en *Capsicum annuum* con los tratamientos de luz azul y 120 segundos de láser He-Ne (Fig. 27 y 28).

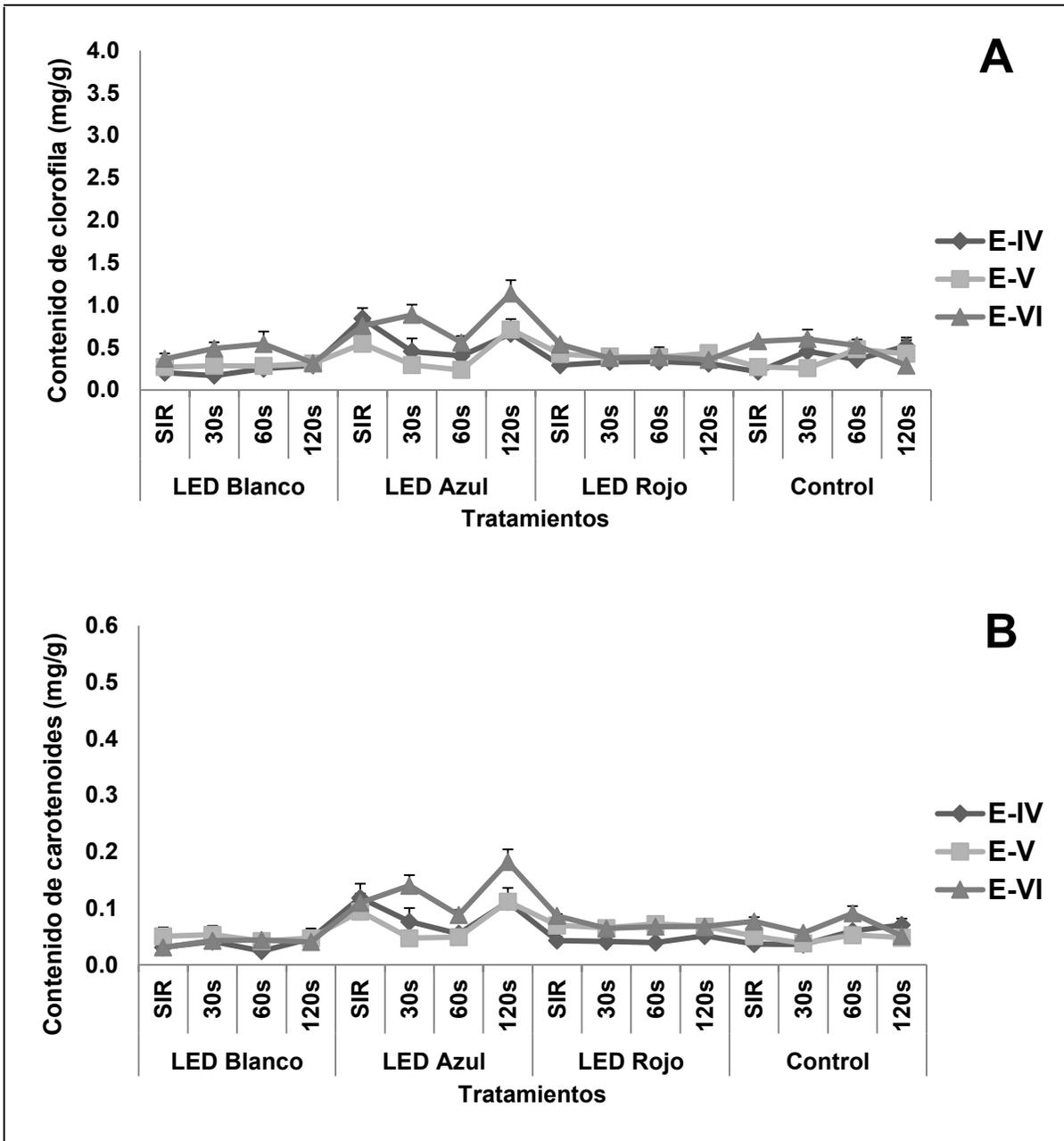
En el contenido de clorofila y carotenoides de la variedad poblano, se observó un incremento en las plantas tratadas con luz LED blanca con 30 y 60 s de irradiación, y con luz LED azul combinada con 0 y 120 s de irradiación láser; siendo este último el que mostró los valores máximos con 3.64 mg/g de clorofila total (Fig. 27 A) y 0.54 mg/g de carotenoides (Fig. 27 B). En cuanto a las etapas analizadas, hay un proceso de aclimatación de las plantas, que influye en fluctuaciones en la concentración de pigmentos y como resultado de ello, se muestran en la etapa V valores menores que en la IV, mismos que nuevamente se incrementan en la etapa VI por encima de los registrados en las etapas anteriores (Figura 27).

En lo que respecta al resto de los tratamientos (LED rojo y luz fluorescente), no se observó un efecto positivo de la exposición de las plántulas referente a la eficiencia fotosintética (Fig. 27).

Por otro lado, para el chile serrano, los tratamientos con luz LED azul (con 0, 30 y 120 s de irradiación) fueron los únicos en mostrar un efecto favorable sobre la concentración de clorofila (Fig. 28 A) y carotenoides (Fig. 28 B), el resto de los tratamientos se manifestaron sin diferencia. Igual que para la variedad de chile poblano, la etapa VI es la que presenta los valores más altos de pigmentos fotosintéticos; sin embargo, tampoco se presentan diferencias entre ésta y las etapas anteriores (Figura 28).



**Figura 27.** Contenido de clorofila total (A) y carotenoides (B) en plantas de chile poblano en Etapas IV, V y VI, provenientes de semillas sometidas a diferentes dosis de irradiación láser He-Ne, bajo la influencia de LEDs. Los datos representan la media  $\pm$  error estándar. Control = Luz Fluorescente; SIR = Semillas no irradiadas.



**Figura 28.** Contenido de clorofila total (**A**) y carotenoides (**B**) en plantas de chile serrano en Etapas IV, V y VI, provenientes de semillas sometidas a diferentes dosis de irradiación láser He-Ne, bajo la influencia de LEDs. Los datos representan la media  $\pm$  error estándar. Control = Luz Fluorescente; SIR = Semillas no irradiadas

## 9. DISCUSIÓN

La irradiación láser He-Ne y la exposición a luz LED, representan procedimientos prometedores para mejorar la producción de plantas de interés económico (Krawiec y cols., 2015; Joshi y cols., 2012; Li y cols., 2016). A la fecha, sin embargo, este trabajo es el primero en estudiar el efecto bioestimulador que ejerce el tratamiento con láser He-Ne de baja potencia combinado con diodos emisores de luz (LEDs), en la germinación de semillas y el desarrollo de plántulas de *Capsicum annuum*. A continuación se discuten cada una de las variables analizadas durante la investigación.

### 9.1 Germinación y crecimiento de las plántulas

En el análisis del efecto del láser He-Ne como tratamiento pre-germinativo, se observó que no hubo diferencias estadísticas significativas en el porcentaje de germinación en cuanto a las dosis de irradiación. Un comportamiento similar lo obtuvieron Álvarez y cols. (2011), quienes no encontraron cambios significativos en el porcentaje de germinación al aplicar el mismo láser con 25 mW de potencia y tiempos de exposición entre 5 y 60 s sobre semillas de jitomate (*Solanum lycopersicum*). En cuanto a los tratamientos de luces LEDs, destacó el uso de luz azul para la variedad serrano y la luz roja para la variedad de chile poblano, aunque no presentaron diferencias significativas respecto a la luz fluorescente. En especies de otras familias, Ichihashi (1990), así como Godo y cols., (2011) observaron que no hay diferencias significativas entre condiciones de oscuridad y bajo condiciones de luz azul, verde, amarilla o roja en la germinación de dos especies de orquídeas (*Bletilla striata* y *B. ochracea*), lo cual podría sugerir que la luz no es un factor limitante en la germinación de semillas de dichas especies y en nuestro caso tampoco lo es para las variedades de chile poblano y serrano (*Capsicum annuum*).

Estos resultados de germinación junto con los obtenidos del índice de velocidad de germinación (IVG), indicaron que la bioestimulación combinada de láser junto con LEDs, más que aumentar el porcentaje de germinación, aceleran dicho proceso. De acuerdo con Chen y cols. (2005), la luz láser incrementa la actividad enzimática, lo que garantiza el acceso más eficiente a las sustancias nutritivas del embrión, acelera la división celular, lo que activa y estimula, por lo tanto, los procesos de desarrollo de las plántulas. En relación al efecto de LEDs, se logró apreciar que la luz roja tiene un efecto favorable en el IVG de semillas de chile, al influir en la obtención de los valores más altos y destacarse en las pruebas de Tukey con diferencias estadísticas significativas respecto a los otros

tratamientos, este hecho coincide con lo mencionado por otros autores que indican que la longitud de onda de la luz roja (620-700 nm) promueve la germinación de otras especies de semillas, como brócoli y amaranto (Paniagua y cols., 2015; Jha y cols., 2010).

Mientras tanto, en el crecimiento de las plántulas de *Capsicum annuum*, tal como Liu y cols. (2012), no se encontró una diferencia significativa de las dosis de irradiación láser respecto al control en la primer etapa; no obstante, durante las etapas dos a la seis, la dosis de 120 segundos de láser He-Ne se mostró como el tiempo de irradiación más favorable para la morfogénesis vegetal. Se conoce que dosis apropiadas de irradiación con láser He-Ne, estimulan al embrión y promueven un mayor crecimiento de la plántula, debido a que el láser como luz específica, puede ser absorbido efectivamente por macromoléculas y causar algunos efectos fotoquímicos positivos durante la germinación y el desarrollo de la plántula (Jamil y cols., 2013). En relación al efecto de la exposición a la luz LED, en nuestra investigación se observó que los valores más altos de los caracteres morfológicos de las plántulas, como son el área foliar y número de hojas, son influenciados por la luz azul; en cambio, la altura total tuvo un mayor crecimiento con el tratamiento de luz blanca para la variedad poblano y luz roja para la variedad serrano. Estos resultados, fueron semejantes a lo establecido por algunos autores, que señalan a la luz azul como el mejor tratamiento para obtener una mayor expansión, área foliar y producción de biomasa en plántulas de pepino y orquídeas (Hogewoning y cols., 2010; Johkan y cols., 2012). Por otra parte, son pocos los estudios en los que se haya visto un efecto positivo de la luz LED blanca en comparación con longitudes de onda como la azul y roja (Sabzalian y cols., 2014). En contraste, Miyashita y cols. (1997), Kim y cols. (2004), Samuoliené y cols. (2010) y Godo y cols. (2011), observaron un incremento de longitud tanto de la raíz como del tallo de diferentes especies vegetales cuando las sometieron a LEDs rojos. Esto debido a que las luces azul y roja ejercen una influencia en las plantas al incrementar su desarrollo y tasa fotosintética, resultado de la distribución de energía espectral de esas longitudes de onda (460 y 640 nm) y la concordancia con la región de absorción de la clorofila (Goins y cols., 1997).

## 9.2 Anatomía e histoquímica de las plántulas

De todos los órganos de la planta, la hoja es el más sensible en responder a los cambios ambientales; de ahí la importancia de conocer su estructura anatómica y composición metabólica (Trewavas, 2003).

Se considera que los estomas desempeñan un papel vital en el mantenimiento de la homeostasis de la planta, ya que influyen en la fotosíntesis, la transpiración y otras actividades fisiológicas (Sun, 2008). La presencia de estomas anisocíticos en ambas superficies de las hojas de *Capsicum annuum*, fue invariable en cuanto a los tratamientos aplicados en este estudio. De acuerdo con Metcalfe y Chalk (1950), Weryszko y Michałojc' (2009) y Dias y cols. (2013), estas características son comunes para las especies de la familia Solanaceae.

La luz es un factor de gran importancia en la regulación en cuanto al tamaño, número y apertura de los estomas. Kim y cols. (2004) y Liu y cols. (2011), por ejemplo, concluyeron que plántulas de crisantemo y jitomate bajo los espectros que contienen una fracción de luz azul tenían el mayor número de estomas. En el presente estudio, como resultado del análisis de experimentos factoriales, el número de estomas en la epidermis de hojas bajo luz LED azul fue mayor que el de otros tratamientos de luz, para las dos variedades de *Capsicum annuum*. En relación con la aplicación de láser, para la variedad de chile poblano, la dosis de 120 segundos de irradiación fue la que mostró los mejores resultados, de acuerdo con Perveen y cols. (2011), el uso de láser He-Ne de baja potencia aumenta el número de estomas y estimula la conductancia estomática del girasol. Sin embargo, en las hojas de la variedad serrano se encontró que el control de irradiación fue el que presentó los valores más altos referentes al número de estomas.

En ausencia de luz o en condiciones de sombra continua, las plantas desarrollan síntomas de etiolación, como la ausencia de clorofila y reducción del tamaño de la hoja; en cambio, cuando las plantas se exponen a la luz, la diferenciación de cloroplastos implica la acumulación de proteínas, lípidos y pigmentos fotosintéticos (Solymosi y Schoefs, 2010; Darko y cols., 2014).

Podemos mencionar que la aplicación de láser combinada con diodos emisores de luz no tuvo un efecto notorio en la anatomía e histoquímica en las plántulas de chile, a diferencia de lo reportado por Podleśny y cols. (2012), Metwally y cols. (2013) y Gao y cols. (2014), quienes observaron un incremento en el contenido de metabolitos primarios y un mayor desarrollo de haces vasculares en plántulas provenientes de semillas irradiadas con láser He-Ne.

La calidad de la luz regula el metabolismo de los hidratos de carbono de las plantas superiores. El contenido de carbohidratos y la acumulación de almidón en los

cloroplastos, se incrementa bajo luz roja (Li y cols., 2012; Samuoliené y cols., 2012). Sin embargo, el presente estudio, se muestra inconsistente con esos resultados, ya que la tinción con lugol reveló de manera cualitativa que la cantidad de almidón en las hojas de chile es relativamente alta en plántulas cultivadas bajo LEDs azules. Por otra parte, para el resto de los contenidos celulares, las tinciones indicaron también cualitativamente la ausencia de diferencias entre los tratamientos aplicados a las dos variedades de *Capsicum annuum* estudiadas.

En las hojas de las dos variedades de *Capsicum annuum* estudiadas, se observó la presencia de cristales de oxalato de calcio. Los cristales que tienen la forma de drusa, son una característica también encontrada en otros representantes de la familia Solanaceae (Horner y Wagner, 1980).

### 9.3 Fisiología de las plántulas

En los resultados del presente estudio, la acidez titulable se vio favorecida con los tratamientos de 120 s de irradiación al combinarse con luz LED blanca y azul. Al incrementar la edad de la plántula, las reacciones metabólicas se aceleran y por lo tanto, se incrementa la concentración de ácidos orgánicos en las células (Chitarra y Chitarra, 1990). Estos ácidos conforman las reservas energéticas para la síntesis de pigmentos, enzimas y otros materiales, esenciales en los procesos fisiológicos de la plántula (Akl y cols., 1995; Castillo y cols., 2009). Existe poca información sobre la acidez de las hojas de *Capsicum annuum*, por lo cual es difícil hacer una comparación con otras investigaciones, sin embargo, los valores obtenidos con el control nos dan idea de que los tratamientos de 120 s de láser en combinación con luz LED blanca y azul, aumentan la cantidad de ácidos orgánicos en las células de las hojas y propician un estado de maduración temprano en comparación con el resto de los tratamientos.

Las plantas responden de diferente manera a la luz visible de longitudes de onda, mediante la activación de fotorreceptores específicos involucrados en procesos fotosintéticos responsables del crecimiento; la intensidad de la luz también es importante en la síntesis de clorofila. Por ejemplo, Li y cols. (2012) describen que al utilizar luz LED azul se observa una mayor concentración de clorofila en plantas de la especie *Brassica campestris*. En el presente trabajo, se demostró un efecto similar a lo observado por dichos autores; donde los valores más altos de clorofila, se registraron en las hojas de *Capsicum annuum* tratadas con 120 s de láser junto con luz LED azul, así como con los

tratamientos de LED blanco en combinación con todas las dosis de irradiación. En contraste, la acumulación de clorofila no presentó un incremento notorio bajo luz LED roja y luz fluorescente.

Por otra parte, algunos autores mencionan que la radiación láser también tiene un efecto positivo sobre el metabolismo de las plantas. A este respecto, Chen y *cols.* (2005), demostraron que el tratamiento pre-germinativo con láser induce cambios estadísticamente significativos en algunos parámetros bioquímicos y fisiológicos en plántulas de *Isatis indogotica*. De acuerdo a estos autores, el tratamiento con láser de las semillas, influyó en un aumento del 44 % en la concentración total de clorofila en comparación con las plantas no biostimuladas. En otro estudio (Sacala y *cols.*, 2012), se encontró que el mayor incremento en el contenido de clorofila total de la remolacha azucarera alcanzó 15 % en comparación con el control. Estos resultados y lo observado en nuestro trabajo, sugieren un efecto positivo de la irradiación con láser He-Ne para incrementar la producción de pigmentos fotosintéticos.

Algo semejante ocurrió en el contenido de carotenoides, donde ambas variedades de chile se vieron influenciadas positivamente por el tratamiento de luz LED azul combinado con 120 s de irradiación láser; resultados similares fueron obtenidos por Lefsrud y *cols.* (2008), Li y Kubota (2009) y Samuolienė y *cols.* (2012), quienes encontraron un aumento significativo en el contenido de carotenoides en plantas de col, lechuga y pepino. Los carotenoides son pigmentos de vital importancia para la fotosíntesis, su presencia otorga a la planta características necesarias para su adecuado desarrollo y crecimiento (Bian y *cols.*, 2015).

## 10. CONCLUSIONES

El uso combinado de láser He-Ne y diodos emisores de luz demostró ser un tratamiento efectivo en la germinación, crecimiento y desarrollo temprano de las plántulas de *Capsicum annuum* var. poblano y serrano.

Los resultados obtenidos indican que la irradiación pre-germinativa con láser He-Ne y la exposición a LEDs, pueden mejorar los procesos fisiológicos de las plántulas de *Capsicum annuum*.

La combinación de luz láser y LEDs tuvo un efecto benéfico sobre la concentración de clorofila y carotenoides de las plántulas de chile poblano y serrano.

La dosis óptima de irradiación láser He-Ne como tratamiento pre-germinativo es de 120 segundos para *Capsicum annuum*.

La luz LED azul (450-460 nm), fue la más favorable para la germinación y desarrollo de plántulas de chile (*Capsicum annuum* L.).

## 11. PERSPECTIVAS

Es necesario continuar con estudios sobre los cambios bioquímicos y metabólicos de la influencia del tratamiento combinado de dosis bajas de láser He-Ne y diodos emisores de luz sobre especies de *Capsicum annuum*.

En el futuro se podría analizar, además, el efecto del tratamiento combinado de láser He-Ne y luces LED sobre la planta en edad adulta y en etapa reproductiva; haciendo un análisis preciso de su influencia en la composición fitoquímica de flores y frutos.

Se deberán impulsar más estudios que incluyan el estudio anatómico e histoquímico cuantitativo sobre *Capsicum annuum*, ya que existe poca información al respecto de la especie y menor aun, acerca de los efectos que provocan los tratamientos de luz sobre estas variables.

A corto plazo, podría estudiarse sobre las variedades examinadas de *Capsicum annuum*, el efecto de otros tiempos de irradiación, otras longitudes de onda de LEDs o la mezcla de ellas; por ejemplo, la combinación de luz roja y azul en diferentes proporciones [(R: A = 4:1), (R: A = 1:1) o (R: A = 1:4)], de acuerdo a lo mencionado en la literatura y los resultados de este trabajo.

La irradiación láser junto con la exposición a LEDs, constituye una técnica efectiva para la germinación y desarrollo inicial de plántulas de chile, por lo cual se podría analizar su efecto en otras variedades o especies de interés económico, alimenticio o medicinal e incrementar su producción a gran escala.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

Aguilar, R. V. H., Corona, T. T., López, L. P., Latournerie, M. L., Ramírez, M. M., Villalon, M. H. y Aguilar, C. J. A., 2010. Los Chiles de México y su Distribución. SINAREFI, Colegio de Postgraduados, INIFAP, IT-Conkal, UANL, UAN. Montecillo, Texcoco, Estado de México.

Akl, A., Eid, A. y Yegab, M., 1995. Effect of urea, some micronutrients and growth regulator foliar spray on the yield, fruit quality and some vegetative characters of Washington navel orange trees: fruit physical and chemical properties, Hortscience, 30: 30-80.

Aladjadjian, A., 2007. The use of physical methods for plant growing stimulation in Bulgaria. Journal of Central European Agriculture, 8 (4): 369-380.

Aladjadjian, A., 2012. Physical factors for plant growth stimulation improve food quality. Food production—approaches, challenges and tasks In Tech Publisher. Pp. 145-168.

Álvarez, F. A., Chávez, S. L. y Ramírez, F. R., 2014. Influencia del tratamiento de semillas con láser de baja potencia en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Centro Agrícola, 41(1): 61-66.

Álvarez, F. A., Chávez, S. L. y Ramírez, F. R., Estrada, P. W., Estrada, L. Y. y Maldonado, R. A., 2013. Efecto del tratamiento de semillas con bajas dosis de rayos X en plantas de pimiento (*Capsicum annuum*). Nucleus, 53: 14-18.

Álvarez, F. A., Ramírez, F. R., Chávez, S. L., Camejo, Y., Licea, L., Porras, E. y García, B., 2011. Efectos del tratamiento de semillas con láser de baja potencia sobre el crecimiento y rendimiento en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). ITEA, 107(3): 260-269.

Amina, A. A. y El-Beltagi, E. S. H., 2010. Influence of ionizing irradiation on the antioxidant enzymes of *Vicia faba* L. International Journal of Fats and Oils, 61 (3): 288-294.

Bachs, L., Cuesta, J. y Carles, N., 1988. Aplicaciones industriales del láser. Marcombo Boixareu Editores, Barcelona. 14-19.

Barbanti, L., Monti, A. y Venturi, G., 2007. Nitrogen dynamics and fertilizer use efficiency in leaves of different ages of sugar beet (*Beta vulgaris*) at variable water regimes. *Annals of Applied Biology*, 150: 197-205.

Barceloux, D., 2009. Pepper and capsaicin (*Capsicum* and piper species). *Medical Toxicology of Natural Substances: Foods, Fungi, Medicinal Herbs, Plants, and Venomous Animals*, 380-390.

Bewley, J. D., Bradford, K. J., Hilhorst, H. W. M. y Nonogaky, H., 2013. Seed, physiology of development, germination and dormancy. Third Edition. Springer. New York, U.S.A. 392.

Bian, Z. H., Yang, Q. C. y Liu, W. K., 2015. Effects of light quality on the accumulation of phytochemicals in vegetables produced in controlled environments: a review. *J. Sci. Food Agric.*, 95: 869-877.

Bosland, P. W. y Votava, E. J., 2000. Peppers: vegetable and spice capsicums. CABI Publishing, Wallingford, UK., 1-16.

Brown, C. S., Schuerger, A. C. y Sager, J. C., 1995. Growth and photomorphogenesis of pepper under red light-emitting diodes with supplemental blue or far-red lighting. *Journal of American Society of Horticulture Science*, 120: 808-813.

Bula, R. J., Morrow, R. C., Tibbitts, T. W., Barta, D. J., Ignatius, R. W. y Martin, T. S., 1991. Light-emitting diodes as a radiation source for plants. *HortScience*, 26: 203-205.

Cabello, A., Sandoval, A. y Caru, M., 2002. Efecto de los tratamientos pre-germinativos y de las temperaturas de cultivo sobre la germinación de semillas de *Talguenea quinquenervia* (talguén). *Ciencias Forestales*, 16: 11-18.

Camacho, M. F., 1994. Dormición de semillas, causas y tratamientos. Editorial Trillas. México, D. F. 9-60.

Campbell, N. A. y Reece, J. B., 2007. Biología. Estructura, crecimiento y desarrollo de las plantas. Panamericana. México. 712-717.

Cano, V. A., 2013. Germinación en semilla de chile piquín (*Capsicum annuum* var. aviculare). Tesis de Maestría en Recursos Genéticos y Productividad, Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. México.

Casal, J. J., 2013. Fotomorfogénesis: la luz como factor regulador del crecimiento. En: Fundamentos de Fisiología Vegetal. Azcon, B. J. y Talón, M. (ed). McGraw-Hill.

Castillo, C. G., Ortiz, C. A., Borie, F. R. y Rubio, R. E., 2009. Respuesta de ají (*Capsicum annuum* L.) cv. "cacho de cabra" a la inoculación con hongos micorrízicos arbusculares. Inf. Tecnol., 20 (4): 3-14.

Cepero, L., Mesa, A. R., García, M. y Suárez, J., 2002. Efecto de la radiación láser en semillas de *Albizia lebbbeck* I. Fase de vivero. Estación Experimental de Pastos y Forrajes, 25 (3): 181-187.

Chen, H. y Han, R., 2015. Effects of He-Ne laser on nuclear F-actin under UV-B radiation. Russ J Plant Physiol, 62: 808.

Chen, J., Ding, R., Tan, Z., LU, J. y Yi, W., 2011. Effects of He-Ne laser irradiation on cabbage seed. Hubei Agricultural Sciences (Chinese Version), 7: 031.

Chen, Y. P., Liu, Y. J., Wang, X. L., Ren, Z. Y. y Yue, M., 2005. Effect of microwave and He-Ne laser on enzyme activity and biophoton emission of *Isatis indigotica*. J. Integrat. Plant Biol., 47 (7): 849-855.

Chitarra, M. y Chitarra A., 1990. Pós-colheita de frutas e hortaliças. Fisiologia emanuseio. Lavras: ESAL. 293.

Cholakov, D., Uzunov, N., y Meranzova, R., 1997. The effect of the helium-neon laser irradiation of cucumber seeds on the physiological characters of plants grown under water stress conditions. Acta Hort., 462: 777-782.

Cichewicz, R., 1996. The antimicrobial properties of chile peppers (*Capsicum* species) and their uses in Mayan medicine. Journal of Ethnopharmacology, 52: 61-70.

CONABIO, Heike Vibrans (ed.). Solanaceae, *Capsicum annuum* L., 2009. Malezas de México. Disponible en:

<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/solanaceae/capsicum-annuum/fichas/ficha.htm>. Accesado el 30/10/15.

D'Arcy, W. G., y Eshbaugh, W. H., 1974. New World peppers (*Capsicum* Solanaceae) north of Colombia. *Baileya*, 19: 93-105.

Daniel, M., 2006. Medicinal plants: chemistry and properties. Science Publishers. Enfield, NH, USA.

Darko, E., Heydarizadeh, P., Schoefs, B. y Sabzalian, M. R., 2014. Photosynthesis under artificial light: the shift in primary and secondary metabolism. *Phil. Trans. R. Soc. B* 369: 20130243.

De las Rivas, J., 2013. La luz y el aparato fotosintético. En: *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Azcon, B. J. y Talón, M. (ed). McGraw-Hill. México.

Desai, B. B., Kotecha, P. M. y Salunkhe, D. K., 1997. Seed morphology and development. En: *Seeds Handbook. Biology, Production, Processing and Storage*. USA: Marcel Dekker Inc.

Dias, G. B., Gomes, V. M., Moraes, T. M., Zottich, U. P., y cols., 2013. Characterization of *Capsicum* species using anatomical and molecular data. *Genet. Mol. Res.* 12: 6488-6501.

Dong, C., Fu, Y., Liu, G. y Liu, H., 2014. Growth, photosynthetic characteristics, antioxidant capacity and biomass yield and quality of wheat (*Triticum aestivum* L.) exposed to LED light sources with different spectra combinations. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 219-230.

Duong, T. N., Hong, L. T. A., Watanabe, H., Goi, M. y Tanaka, M., 2002. Growth of banana plantlets cultured *in vitro* under red and blue light-emitting diode (LED) irradiation source. *Acta Horticulturae*, 575: 117-124.

Dwyer, L. M., Tollenaar, M. y Houwing, L., 1991. A nondestructive method to monitor leaf greenness in corn. *Can. J. Plant Sci.* 71: 505-509.

Esau, K., 1987. Anatomía de las plantas con semilla. Hemisferio Sur. Argentina.

Farías, L., Chuecas, L. A. y Salamanca, M. A., 1996. Effect of coastal upwelling on nitrogen regeneration from sediments and ammonium supply to the water column in Concepcion Bay, Chile. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 43:137-155.

Galicia, G. F. G. y López, G. H. H., 2011. Sistema automático para selección y ubicación de productos terminados dentro de un proceso específico de manufactura utilizando tecnología láser. Tesis de Ingeniero en Control y Automatización. Escuela Superior de Ingeniería Mecánica y Eléctrica. Instituto Politécnico Nacional. México.

Gao, L. M., Li, Y. F. y Han, R., 2014. He-Ne laser preillumination improves the resistance of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) seedlings to high saline conditions. *Protoplasma* 1: 1-14.

Garrett, C. G. B., 1967. Gas Lasers. McGraw-Hill. España.

Garruña, H. R., Latournerie, M. L., Ayala, G. O., Santamaría, J. M. y Pinzón, L. L., 2014. Acondicionamiento pre-siembra: una opción para incrementar la germinación de semillas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agrociencia*, 48 (4): 413-423.

Godo, T., Fujiwara, K., Guan, K. y Miyoshi, K., 2011. Effects of wavelength of LED-light on *in vitro* asymbiotic germination and seedling growth of *Bletilla ochracea* Schltr. (Orchidaceae). *Plant Biotechnology*, 28: 397-400.

Goins, G. D., Yorio, N. C., Sanwo, M. M. y Brown, C. S., 1997. Photomorphogenesis, photosynthesis, and seed yield of wheat plants grown under red light-emitting diodes (LEDs) with and without supplemental blue lighting. *J. Exp. Bot*, 48: 1407-1413.

González, S., Fortes, D. y Herrera, R. S., 2008. Efecto de diferentes dosis de radiación láser en la germinación de semillas de Kudzú (*Pueraria phaseoloides*). *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 42 (1): 93-95.

Govil, S. R., Agrawal, D. C., Rai, K. P. y Thakur, S. N., 1991. Physiological responses of *Vigna radiata* L. to nitrogen and argon + laser irradiation. *Indian J. Plant Physiol.*, 34: 72-76.

Grygierzec, B., 2008. Macroelement content in pasture sward under-sown with perennial ryegrass irradiated with diode and laser. *Ecolog. Chem. Eng., A*, 15: 65-70.

- Hermann, K., Meinhard, J., Dobrev, P., Linkies, A., Pesek, B., Heß, B., Machackova, I., Fischer, U. y Leubner, M. G., 2007. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid and abscisic acid during the germination of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) - A comparative study of fruits and seeds. *J. Exp. Bot.* 58: 3047-3060.
- Hernández, A. C., Domínguez, P. A., Cruz, O. A., Ivanov, R., Carballo, C. A. y Zepeda, B. R., 2010. Laser in agriculture. *International Agrophysics*, 24 (4): 407-422.
- Hernández, F. E., Quero, C. A. R., Joaquín, T. B. M., Hernández, G. A. y Hernández, G. F. J., 2016. Métodos de escarificación y germinación en *Brachiaria brizantha* cv. Insurgente. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7 (1): 173-184.
- Hernández, V. S., Dávila, A. P. y Oyama, K., 1999. Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. *Bol. Soc. Bot. Mex.*, 64: 65-84.
- Hernández, V. S., González, S. R., Porras, F., Parra, T. S., Valdez, O. A., Pacheco, O. A. y López, E. R., 2015. Plasticidad fenotípica de poblaciones de chile silvestre (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) en respuesta a disponibilidad de luz. *Botanical Sciences*, 93 (2): 1-10.
- Hernández, V. S., López, E. R., Porras, F., Parra, T. S., Villarreal, R. M. y Osuna, E. T., 2010. Variación en la germinación entre poblaciones y plantas de chile silvestre. *Agrociencia*, 44: 667-677.
- Hoenecke, M. E., Bula, R. J. y Tibbits, T. W., 1992. Importance of blue photon levels for lettuce seedlings grown under red-light-emitting diodes. *Hortscience*, 27: 427-430.
- Hogewoning, S.W., Trouwborst, G., Maljaars, H., Poorter, H., Ieperen, W. y Harbinson, J., 2010. Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. *Journal of Experimental Botany*, 61: 3107-3117.
- Holm, G., 1954. Chlorophyll mutations in barley. *Acta. Agr. Scand.*, 4: 457-471.
- Horner, H. T. y Wagner, B. L., 1980. The association of druse crystals with the developing stomium of *Capsicum annuum* (Solanaceae) anthers. *American Journal of Botany*, 67 (9): 1347-1360.

Howard, K. S., 2011. Cytotoxic activity of Verbenaceae (*Daniellia oliven*) and Solanaceae (*Capsicum frutescens*) on breast cancer, prostate cancer, and colon cancer cells. Tennessee State University. 49.

Hyeon, S., 2008. Antioxidant activities of red pepper (*Capsicum annuum*) pericarp and seed extracts. International Journal of Food Science and Technology, 43: 1813-1823.

Ichihashi, S., 1990. Effects of light on root formation of *Bletilla striata* seedlings. Lindleyana, 5: 140-143.

Jamil, Y., Perveen, R., Ashraf, M., Ali, Q., Iqbal, M. y Raza, A. M., 2013. He-Ne laser-induced changes in germination, thermodynamic parameters, internal energy, enzyme activities and physiological attributes of wheat during germination and early growth. Laser Physics Letters, 10 (4): 1-8.

Jha, P., Norsworthy, J. K., Riley, M. B. y Bridges, W., 2010. Annual changes in temperature and light requirements for germination of palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) seeds retrieved from soil. Weed Science, 58: 426-432.

Johkan, M., Shoji, K., Goto, F., Hahida, S. y Yoshihara, T., 2012. Effect of green light wavelength and intensity on photomorphogenesis and photosynthesis in *Lactuca sativa*. Environmental and Experimental Botany, 75: 128-133.

Joshi, S., Joshi, G. C. y Agrawal, H. M., 2012. Study on the effect of laser irradiation on wheat (*Triticum aestivum* L.) variety PBW-373 seeds on zinc uptake by wheat plants. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 294 (3): 391-394.

Khalifa, N. S. y El Ghandour, H., 2011. Investigate the effect of Nd-Yag laser beam on soybean (*Glycine max*) leaves at the protein level. International Journal of Biology, 3 (2): 135-144.

Kim, S. J., Hahn, E. J., Heo, J. W. y Paek, K. Y., 2004. Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets *in vitro*. Scientia Horticulturae, 101: 143-151.

Krawiec, M., Dziwulska, H. A., Sujak, A. y Palonka, S., 2015. Laser irradiation effects on scorzonera (*Scorzonera hispánica* L.) seed germination and seedling emergence. Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus, 14 (2): 145-158.

Laborde, J. A. y Rendón, E. P., 1989. Tomatoes and peppers in Mexico: commercial production and research challenges. S. K. Green (Ed.). Tomato and pepper production in the tropics, AVRDC, Formosa, 521-535.

Landis, T. D., Pinto, J. R. y Dumroese, R. K., 2013. Light-emitting diodes (LED): applications in forest and native plant nurseries. *Forest Nursery Notes*, 33: 5-13.

Lefsrud, M. G., Kopsell, D. A. y Sams, C. E., 2008. Irradiance from distinct wavelength light-emitting diodes affect secondary metabolites in kale. *HortScience*, 43: 2243-2244.

Li, H., Tang, C., Xu, Z., Liu, X. y Han, X., 2012. Effects of different light sources on the growth of non-heading chinese cabbage (*Brassica campestris* L.). *Journal of Agricultural Science*, 4: 262-273.

Li, Q. y Kubota, C., 2009. Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce. *Environmental and Experiment Botany*, 67: 59-64.

Li, X., Lu, W., Hu, G., y cols., 2016. Effects of light-emitting diode supplementary lighting on the winter growth of greenhouse plants in the Yangtze River Delta of China. *Bot. Stud.*, 57:2.

Liu, X. Y., Guo, S. R., Chang, T. T., Xu, Z. G. y Takafumi, T., 2012. Regulation of the growth and photosynthesis of cherry tomato seedlings by different light irradiations of light emitting diodes (LED). *African Journal of Biotechnology*, 11 (22): 6169-6177.

Liu, X. Y., Guo, S. R., Xu, Z. G. y Jiao, X. L., 2011. Regulation of chloroplast ultrastructure, cross-section anatomy of leaves, and morphology of stomata of cherry tomato by different light irradiations of light-emitting diodes. *HortScience*, 46 (2): 217-221.

Lobna, S. T., Hanan, A. A. T., Sami, A. M. y Hwida, M. F., 2014. Effect of laser radiation treatments on *in vitro* growth behavior, antioxidant activity and chemical constituents of *Sequoia sempervirens*. *Research Journal Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 5 (4): 1024-1034.

Loza, C. S., 2004. Características de semillas, germinación y desarrollo de plántulas de seis especies de *Pachycereeae* (Cactaceae). Tesis de Doctorado en Ciencias. Programa de Botánica, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México.

Mandujano, M. C., Golubov, J. y Rojas, A. M., 2007. Efecto del ácido giberélico en la germinación de tres especies del género *Opuntia* (Cactaceae) del desierto Chihuahuense. *Cact. Suc. Mex.*, 52: 46-52.

Martínez, G. M. y Fragoso, M. I., 2014. Magnoliophyta. En: Introducción a las Embriofitas. Valencia, S. (Ed.). Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias. 223.

Mauseth, J. D., 2003. Plant Structure. En: Botany. An Introduction to plant biology. Jones and Bartlett Publishers. U.S.A.

Melgarejo, L. M., Hernández, M. S., Barrera, J. A. y Bardales, X., 2004. Caracterización y usos potenciales del banco de germoplasma de ají amazónico. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas - SINCHI. Colombia.

Mendía, J., 2000. Algunas consideraciones sobre el manejo de cultivo de pimiento en invernáculo. FCS As y Fs. UNLP.

Mérola, R. y Díaz, S., 2012. Métodos, técnicas y tratamientos para inhibir dormancia en semillas de plantas forrajeras. Facultad de Ciencias Agrarias. Trabajo Postgrado. Montevideo, Uruguay.

Metcalfe, C. R. y Chalk, L., 1950. Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with note on economic uses. University Press, Oxford.

Metwally, S. A., Abou, E. M., Abo, L. B.H. y Aboud, K. A., 2013. Effect of laser radiation on the growth, anatomical and biochemical genetic markers of *Celosia argentea* plants. *International Journal of Academic Research*, 5 (3): 200-205.

Michtchenko, A. y Hernández, M., 2010. Photobiostimulation of germination and early growth of wheat seeds (*Triticum aestivum* L.) by a 980 nm semiconductor laser. *Rev. Cub. Fís.*, 27 (2B): 271-274.

Miyashita, Y., Kimura, T., Kitaya, Y., Kubota, C. y Kozai, T., 1997. Effect of red light on the growth and morphology of potato plantlets *in vitro*: using light emitting diodes (LEDs) as a light source for micropropagation. *Acta Horticulturae*, 418: 169-173.

Montes, H. S., López, L. P., Hernández, V. S. y Ramírez, M. M., 2010. Recopilación y análisis de la información existente de las especies del género *Capsicum* que crecen y se cultivan en México (informe final). Campo Experimental Bajío, Campo Experimental Valles Centrales, Campo Experimental Sur de Tamaulipas INIFAP. Escuela de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS). SEMARNAT- CONABIO. México D.F.

Nuez, F., Gil, O. R. y Costa, J., 2003. El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid-España.

Okamoto, K., Yanagi, T. y Takita, S., 1996. Development of plant growth apparatus using and red LED as artificial light source. *Acta Horticulturae*, 440: 111-116.

Orozco, S. A., 1999. Procesos ecofisiológicos que intervienen en la germinación de semillas de especies tropicales. Papel de los fitocromos. En: *Ecofisiología vegetal y conservación de recursos genéticos*. Orellana, R., Escamilla, J. A. y Larqué-Saavedra, A. (Ed.) Centro de Investigación Científica de Yucatán, México. 59-66.

Osmond, C. B., Adams, W. W. y Smith, S. D., 1989. Crassulacean acid metabolism. En: *Plant physiological ecology-field methods and instrumentation*. Pearcy, R. W., Ehleringer, J., Mooney, H. A. y Rundel, P. W. (ed.) Chapman and Hall. EE.UU. 255-275.

Oyama, K., Hernández, V. S., Sánchez, C., González, R. A., Sánchez, P. P. y Garzón, T. J. A., 2006. Genetic structure of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum* (Solanaceae) from northwestern Mexico analyzed by RAPDs. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53: 553-562.

Palacios, R. R., 2000. Efecto de iones y otros factores físicos sobre la germinación de semillas. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 44 (3): 233-236.

Paniagua, P. G., Hernández, A. C., Rico M. F., Domínguez P. F. A., Martínez, O. E. y Martínez, G. C. L., 2015. Efecto de la luz LED de alta intensidad sobre la germinación y el crecimiento de plántulas de brócoli (*Brassica oleracea* L.). *Polibotánica*, 40: 199-212.

Partida, S. A. A. y Quezada, C. S. M., 2012. De los nombres del chile y sus variedades principales en tierras nayaritas. *Fuente*, 10: 50-55.

Pereyra, M. C., Davidenco, V., Nuñez, S. B. y Argüello, J. A., 2014. Chlorophyll content estimation in oregano leaves using a portable chlorophyll meter: relationship with mesophyll thickness and leaf age. *Rev. Agronomía & Ambiente*, 34 (1-2): 77-84.

Perveen, R., Ali, Q., Ashraf, M., Al-Qurainy, F., Jamil, Y. y Raza, A.M., 2010. Effects of different doses of low power continuous wave He-Ne laser radiation on some seed thermodynamic and germination parameters, and potential enzymes involved in seed germination of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Photochemistry and Photobiology*, 86: 1050-1055.

Perveen, R., Jamil, Y., Ashraf, M., Ali, Q., Iqbal, M. y Ahmad, M. R., 2011. He-Ne laser-induced improvement in biochemical, physiological, growth and yield characteristics in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Photochemistry and Photobiology*, 87: 1453-1463.

Petruzzelli, I., Müller, K., Hermann, K. y Leubner, M. G., 2003. Distinct expression patterns of  $\beta$ -1, 3-glucanases and chitinases during the germination of Solanaceous seeds. *Seed Science Research*. 13: 139-153.

Podleśny, J., Stochmal, A., Podleśna, A. y Eugeniusz, M. L., 2012. Effect of laser light treatment on some biochemical and physiological processes in seeds and seedlings of with lupine and faba vean. *Plant Growth Regulation*, 67: 227-233.

Pozo, O., 1981. Descripción de tipos y cultivares de chile (*Capsicum annuum* spp.) en México. INIA, México.

Pozo, O., Montes, H. S. y Redondo, J. E., 1991. El chile (*Capsicum* spp.). En: *Avances en el estudio de los recursos fitogenéticos de México*. Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. México, 217-238.

Prado, U. G., Lagunes, E. L., García, L. E., Bautista, M. C., Camacho, C. W., Mirafuentes, F. y Aguilar, R. V., 2015. Germinación de semillas de chiles silvestres en respuesta a tratamientos pre-germinativos. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 2 (5): 139-149.

Reyes, B. Z. y Rodríguez, T. D. A., 2005. Efecto de la luz, temperatura y tamaño de semilla en la germinación de *Nolina parviflora* (H.B.K.) Hemsl. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 11 (2): 99-104.

Richardson, A. D., Duigan, S. P. y Berlyn, G. P., 2002. An evaluation of non-invasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytol.*, 153: 185-194.

Rodríguez, L. A., Ramírez, M. y Pozo, O., 2003. Memoria del 1er Simposio Regional de Chile Piquín. Avances de investigación en tecnología de producción y uso racional del recurso silvestre. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Río Bravo. Publicación Especial Núm. 26. México. 1-19.

Rodríguez, L. A., Sánchez, R. y Silva, S. M. M., 2005. Effect of sunlight regimes on growth and yield of piquin pepper. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 11: 357-359.

Ruiz, E. F. H., Murillo, A. B., García, H. J. L., Fenech, L. L., Rueda, P. E. O., Troyo, D. E., Kaya, C. y Beltrán, M. A., 2010. Field evaluation of the relationship between chlorophyll content in basil leaves and a portable chlorophyll meter (SPAD-502) readings. *J. Plant Nutr.*, 33: 423-438.

Rylski, I., 1986. *Pepper (Capsicum)*. CRC Handbook of fruit set and development. Monselise, S. P. (ed.) CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. 341-354.

Sabzalian, M. R., Heydarizadeh, P., Zahedi, M., Boroomand, A., Agharokh, M., Sahba, M. R. y Schoefs, B., 2014. High performance of vegetables, flowers, and medicinal plants in a red-blue LED incubator for indoor plant production. *Agron. Sustain. Dev.*, 34, 879-886.

Sacala, E., Demczuk, A., Grzyoe, E., Proeoba, B. U. y Szajsner, H. 2012. Impact of presowing laser irradiation of seeds on sugar beet properties. *Int. Agrophysics*, 26: 295-300.

Saebo, A., Krekling, T. y Appelgren, M., 1995. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy of birch plantlets *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 41: 177-185.

Salinas, Y. y Molina, J., 1996. Efecto del ácido giberélico y de la temperatura sobre la calidad fisiológica de semillas de maíz. *Información Tecnológica*, 2: 43.

Salunkhe, D. K., 2003. *Tratado de Ciencia y Tecnología de las Hortalizas: Producción, Composición, Almacenamiento y Procesado*. Editorial ACRIBIA S. A. Zaragoza, España, 739.

Samuolienė, G., Brazaitytė, A., Duchovskis, P., Viršilė, A., Jankauskienė, J., Sirtautas, R., Novičkovas, A., Sakalauskienė, S. y Sakalauskaitė, J., 2012. Cultivation of vegetable transplants using solid-state lamps for the short-wavelength supplementary lighting in greenhouses. *Acta Horticulturae*, 952: 885-892.

Samuolienė, G., Brazaitytė, A., Urbonavičiūtė, A., Šabajevienė, G. y Duchovskis, P., 2010. The effect of red and blue light component on the growth and development of frigo strawberries. *Zemdirbyste-Agriculture*, 97 (2): 99-104.

SAS, 2002. *SAS User's Guide: Statistics*. SAS Inst. Inc.

Schoch, P. G., 1972. Effects of shading on structural characteristics of leaf and yield of fruit in *Capsicum annuum* L. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 97: 461-464.

Schuerger, A. C. y Brown, C. S., 1997. Spectral quality affects disease development of three pathogens on hydroponically grown plants. *HortScience*, 32: 96-100.

Senger, H., 1982. The effect of blue light on plants and microorganisms. *Photochemistry and Photobiology*, 35: 911-920.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2011. Anuario de la producción Agrícola del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México. Disponible en <http://www.siap.gob.mx/>

Silla, F., González, G. A., González, M. M. E., Mediavilla, S. y Escudero, A., 2010. Estimation of chlorophyll in *Quercus* leaves using a portable chlorophyll meter: effects of species and leaf age. *Ann. For. Sci.* 67: 108.

Soliman, A. S. H. y Harith, M. A., 2010. Effects of laser biostimulation on germination of *Acacia farnesiana* L. Willd. *Acta Horticulturae*, 854: 41-50.

Solyosi, K. y Schoefs, B., 2010. Etioplast and etio-chloroplast formation under natural conditions: the dark side of chlorophyll biosynthesis in angiosperms. *Photosynth. Res.* 105: 143-166.

Srećković, M., Vasić, R., Dukić, M., Jevtić, S. y Jovanić, P., 2014. The influence of diode and He-Ne Lasers on corn and wheat seeds. *J. Agricultural Sci. Technol.*, B4: 165-175.

Steigerwald, D., Bhat, J., Collins, D., Fletcher, R., Holcomb, M., Ludowise, M., Martin, P. y Rudaz, S., 2002. Illumination with solid state lighting technology. *IEEE Journal on Selected Topics in Quantum Electronics*, 8: 310-320.

Sun, X. D., 2008. Discussion on experiment of influence factor of stomatal movement. *Anhui Agriculture Science*, 36: 7995-7999.

Taíz, L. y Zeiger, E., 2010. *Plant Physiology*. Fifth edition. Sinauer Associates, Incorporated. 782.

Tanaka, M., Takamura, T., Watanabe, H., Endo, M., Yanagi, T. y Okamoto, K., 1998. *In vitro* growth of *Cymbidium* plantlets cultured under super bright and blue light-emitting diodes (LEDs). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 73: 39-44.

Tewksbury, J. J., Nabham, G. P., Norman, D., Suzán, H., Tuxil, J. y Donovan, J., 1999. *In situ* conservation of wild chiles and their biotic associated. *Conservation Biology* 13: 98-107.

Tilbrook, K., Arongaus, A. B., Binkert, M., Heijde, M., Yin, R. y Ulm, R., 2013. The UVR8 UV-B photoreceptor: perception, signaling and response. *The Arabidopsis Book* 11: e0164.

Trewavas, A., 2003. Aspects of plant intelligence. *Annals of Botany*, 92: 1-20.

Tripathy, B. C. y Brown, C. S., 1995. Root-shoot interaction in the greening of wheat seedlings grown under red light. *Plant Physiology*, 107: 407-411.

Urbonavičiūt, A., Pinho, P., Samuolien, G., Duchovskis, P., Vitta, P., Stonkus, A., Tamulaitis, G., Žukauskas, A. y Halonen, L., 2007. Effect of short wavelength light on lettuce growth and nutritional quality. *Scientific Works of the Lithuanian Institute of Horticulture and Lithuanian University of Agriculture - Sodrininkystė Ir Daržininkystė*, 26: 157-165.

Vadillo, G., Suni, M. y Cano, A., 2004. Viabilidad y germinación de *Puya raimondii* Harms (Bromeliaceae). *Rev. Peru. Biol.*, 11 (1): 71-78.

- Valadez, L. A., 1993. Producción de Hortalizas. Editorial LIMUSA. México. 298.
- Valencia, S. y Jiménez, J., 2014. Evolución hacia el hábito de la semilla. En: Introducción a las Embriofitas. Valencia, S. (ed.). Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias. 223.
- Vallejo, F. A. y Estrada, E. I., 2004. Producción de hortalizas de clima cálido. Palmira: Universidad Nacional de Colombia.
- Vázquez, Y. C., 1999. Ecología fisiológica de las semillas y su relación con la conservación. En: Ecofisiología vegetal y conservación de recursos genéticos. Orellana, R., Escamilla, J. A. y Larqué, S. A. (ed.) Centro de Investigación Científica de Yucatán, México.
- Waizel, B. J., y Camacho, M. R., 2011. El género *Capsicum* spp. Una visión panorámica. Aleph Zero, 67-79.
- Weryszko, C. E. y Michałojc', Z., 2009. Anatomical features of leaves of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) fed with calcium using foliar nutrition. Journal Acta Agrobotanica, 62 (2): 155-164.
- Wettstein, D., 1957. Chlorophyll letale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden. Exp. Cell Res., 12: 427-434.
- William, R.L. 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales. Estudio FAO Montes 20/2. Roma.
- Wu, M. C., Hou, C. Y., Jiang, C. M., Wang, Y. T., Wang, C. Y., Chen, H. H., Chang, H. M., 2007. A novel approach of LED light radiation improves the antioxidant activity of pea seedlings. Food Chemistry, 101: 1753-1758.
- Wu, X. R. y An, Y., 2002. The biological effects of laser on maize seeds at germinating stage. Acta Laser Biol. Sin., 11 (4): 251-253.
- Yanagi, T. y Okamoto, K., 1997. Utilization of super-bright light emitting diodes as an artificial light source for plant growth. Acta Horticulturae, 418: 223-228.

Yanagi, T., Okamoto, K. y Takita, S., 1996. Effects of blue, red and blue/red lights of two different PPF levels on growth and morphogenesis of lettuce plants. *Acta Horticulturae*, 440: 117-122.

Zhang, B., Duan, Z. y Yang, M., 2011. Effects of He-Ne laser on the seeds of germination of old wheat. *Tianjin Agricultural Sciences*, 2: 033.

Zulay, F. V., 1996. Efecto del almacenamiento sobre la calidad de semillas de (*Brachiaria dictyoneura*). *Zootecnia Tropical*, 14 (2): 113-131.

### 13. GLOSARIO

**Abaxial:** Cara inferior de una hoja (envés).

**Acidez titulable:** Representa a los ácidos orgánicos que se encuentran libres en la planta y se mide neutralizando los jugos o extractos obtenidos a partir de ella con una base fuerte.

**Adaxial:** Cara superior o haz del limbo de la hoja, su color suele ser más oscuro que el del envés.

**Anfiestomática:** Estructura foliar que presenta estomas en ambas superficies.

**Anisocítico:** Tipo de estoma en el que las células oclusivas están rodeadas generalmente por tres células anexas, siendo una de ellas considerablemente más grande o más pequeña que las otras dos.

**Ápice:** Extremo superior o punta de la hoja, del fruto, del tallo, etc.

**Autógama:** Modo de reproducción sexual consistente en la fusión de gametos femeninos y masculinos producidos por el mismo individuo.

**Bioestimulación:** Es el conjunto de procedimientos para promover o retardar un proceso fisiológico.

**Capsaicina:** Es una oleorresina, componente activo y metabolito secundario producido por el género *Capsicum*.

**Carminativo:** Que favorece la expulsión de los gases del tubo digestivo.

**Carotenoide:** Grupo de pigmentos liposolubles naturales que son sintetizados por las plantas, algas y bacterias fotosintéticas.

**Clorofila:** Pigmento verde presente en las células vegetales, receptor de la energía luminosa en el proceso de fotosíntesis; también se encuentra en algas y bacterias fotosintéticas.

**Coherencia:** Propiedad de un láser que hace que todas las ondas que conforman el haz de luz estén relacionadas una con la otra tanto en tiempo como en espacio.

**Cotiledón:** Hojas primordiales que se encuentran en el germen de la semilla de las plantas con flores.

**Cromóforo:** Sustancia química capaz de absorber energía o luz visible y excitarse para así emitir diversos colores.

**Cubierta seminal:** Es la capa que rodea a la semilla de las plantas espermatófitas.

**Diodo:** Dispositivo electrónico de dos electrodos por el que circula la corriente en un solo sentido.

**Dipsomanía:** Ingesta de bebidas alcohólicas de manera incontrolable.

**Dispepsia:** Trastorno de la digestión, cuyos síntomas más frecuentes son náuseas, pesadez, dolor de estómago, ardor y flatulencia.

**Drusa:** Cristal de oxalato de calcio presente en las vacuolas de plantas cuando aparecen en forma de prismas.

**Eficiencia fotosintética:** Relación entre la producción energética de la planta y la insolación recibida.

**Embrión:** Rudimento de la planta que se encuentra en el interior de la semilla a la espera de las condiciones adecuadas para poder germinar.

**Endospermo:** Tejido del embrión de las plantas fanerógamas que le sirve de alimento.

**Epicótilo:** Primer entrenudo de una planta, situado por encima de los cotiledones.

**Espectro electromagnético:** Distribución energética del conjunto de las ondas electromagnéticas, que incluyen las ondas de radio, las microondas, los infrarrojos, la luz visible, la luz ultravioleta, los rayos X y los rayos Gamma.

**Espermatofitas:** Son un grupo monofilético del reino de las plantas que comprende a todos los linajes de plantas vasculares que producen semillas.

**Estoma:** Poro en una hoja, regulado por dos células oclusivas que controlan el intercambio de gases y la transpiración entre la planta y el exterior.

**Etiolación:** Proceso de crecimiento de las semillas o plantas en condiciones de oscuridad, caracterizado por la carencia de clorofila y del desarrollo de los cloroplastos.

**Fitocromo:** Proteína con actividad quinasa presente en organismos vegetales, su función es actuar como fotorreceptor de luz roja gracias a que posee un cromóforo.

**Fotomorfogénesis:** Uso de la luz para controlar el desarrollo estructural de la planta, dependiente de la presencia de fotorreceptores especializados o pigmentos químicos capaces de absorber ondas de luz específicas.

**Fotoperiodo:** Cambios de iluminación que reciben las plantas.

**Fotorreceptor:** Molécula capaz de convertir la energía óptica de la luz que incide sobre una superficie sensorial en energía eléctrica, mediante un proceso de transducción.

**Glabra:** Que está desprovisto de pelos y glándulas.

**Hipocótilo:** Parte del eje caulinar que germina de una semilla, se encuentra debajo de la inserción de los cotiledones.

**Histoquímica:** Es el estudio de los componentes tisulares y celulares por medio de colorantes especiales y reacciones bioquímicas.

**Irradiación:** Proceso mediante el cual se expone en forma controlada un material a la acción de una fuente de radiación.

**Láser:** Dispositivo electrónico de gran intensidad que genera o amplifica un haz de luz monocromático y coherente, basado en la emisión estimulada de radiación de las moléculas que contiene.

**Latencia:** Estado de dormición durante el cual el crecimiento de una planta u órgano vegetal queda temporalmente interrumpido.

**Longitud de onda:** Distancia real que recorre una perturbación u onda en un determinado intervalo de tiempo.

**Luz visible:** Región del espectro electromagnético que el ojo humano es capaz de percibir, con longitudes de onda que van desde 380 hasta 780 nm.

**Metabolismo:** Conjunto de los cambios químicos y biológicos que se producen continuamente en las células vivas de un organismo.

**Metabolito:** Es cualquier sustancia utilizada o producida durante el metabolismo.

**Micrópilo:** Abertura u orificio a modo de canalículo, que se halla en la porción apical de los óvulos o rudimentos seminales.

**Monocromaticidad:** Especificidad de la luz en una sola longitud de onda definida. Si la especificidad está en el espectro de la luz visible, se presenta en sólo un color.

**Monoica:** Que tiene las flores masculinas y femeninas en un mismo tallo.

**Morfogénesis:** Es el proceso por el cual un grupo de embriones determinan el desarrollo de los órganos, tejidos o células individuales del organismo de los seres vivos, como también las características y funciones particulares de cada uno de esos componentes.

**Pericarpio:** Parte exterior del fruto de las plantas que envuelve las semillas.

**Pivotante:** Que se hunde verticalmente en la tierra, como una prolongación del tronco.

**Protruir:** Desplazamiento de un órgano hacia delante o fuera de sus límites.

**Pungencia:** Es la sensación de ardor o picor agudo producido por productos hortícolas (chiles), captada por el sentido del gusto al contacto.

**Radiación fotosintéticamente activa (PAR):** Cantidad de radiación integrada del rango de longitudes de onda capaces de producir actividad fotosintética en las plantas y otros organismos fotosintéticos, correspondiente con el espectro visible.

**Radiación térmica:** Radiación emitida por un cuerpo debido a su temperatura.

**Radical libre:** Es una especie química (orgánica o inorgánica), caracterizada por poseer uno o más electrones desapareados.

**Radícula:** Parte del embrión de una planta que al desarrollarse da lugar a la raíz primaria.

**Sinergia:** Acción conjunta de varios factores, órganos o sistemas, en la realización de una función.

**Transmitancia:** Magnitud que expresa la cantidad de energía que atraviesa un cuerpo en la unidad de tiempo (potencia).