

ARTICLE / INVESTIGACIÓN

Influencia de las condiciones de iluminación sobre el establecimiento *in vitro* de yemas de *Solanum tuberosum* L. var. Cecilia

Influence of lighting conditions on the *in vitro* bud set of *Solanum tuberosum* L. var. Cecilia

Silva Agurto Catherine^{1*}, Michel Leiva Mora¹, Nayeli Sanchez Ortiz² and Danny del Castillo Bastidas²

DOI. 10.21931/RB/2023.08.03.9

¹Laboratorio de Biotecnología. Departamento de Agronomía, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.

²Estudiante de la Maestría de Agronomía Mención Nutrición Vegetal cohorte 2022, Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.

Corresponding author: cl.silva@uta.edu.ec

Resumen: La micropropagación *in vitro* es una importante herramienta biotecnológica para la producción masiva de plantas, existen varios factores que intervienen en el desarrollo las plantas *in vitro* como el medio de cultivo, fitohormonas y condiciones de iluminación. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de condiciones de iluminación sobre el establecimiento *in vitro* de yemas de *S. tuberosum* Var. Cecilia. Se utilizaron brotes de tubérculos previamente desinfectados y se sembraron en un medio de cultivo compuesto por MS + 20 g.L⁻¹ de sacarosa + 7 g.L⁻¹ de agar y se expusieron a diferentes condiciones de iluminación, se determinó el número de nudos, número de hojas, número de brote, altura de planta, porcentaje de establecimiento y porcentaje de contaminación. A los 30 días la luz blanca fluorescente total y 12 h luz natural + 12 h oscuridad mostraron una mayor altura de planta, mientras que las condiciones de iluminación no mostraron efecto sobre el número de nudos, número de hojas, número de brotes por planta, porcentaje de establecimiento y porcentaje de contaminación. En base a los resultados del presente trabajo se concluyó que tanto la luz blanca fluorescente total y 12 h luz natural + 12 h oscuridad favorecieron el establecimiento *in vitro*.

Palabras clave: Brotes, crecimiento, luz, oscuridad.

Abstract: *In vitro*, micropropagation is an essential biotechnological tool for the mass production of plants. Several factors influence *in vitro* plant development, such as the culture medium, phytohormones, and illumination conditions. The present work aimed to evaluate the effect of illumination conditions on the *in vitro* establishment of buds of *S. tuberosum* Var. Cecilia. Previously disinfected tuber shoots were sown in a culture medium composed of MS + 20 g.L⁻¹ sucrose + 7 g.L⁻¹ agar and exposed to different illumination conditions. The number of nodes, the number of leaves, the number of shoots, plant height, percentage of establishment and percentage of contamination were determined. At 30 days, total fluorescent white light and 12 h natural light + 12 h darkness showed a greater plant height, while the lighting conditions showed no effect on the number of nodes, number of leaves, number of shoots per plant, percentage of establishment and percentage of contamination. Based on the results of the present work, it was concluded that both total white fluorescent light and 12 h natural light + 12 h darkness favored *in vitro* establishment.

Key words: Darkness, growth, light, sprouts.

Introducción

La micropropagación *in vitro* es una herramienta que se ha convertido en una alternativa para producir plantas masivamente y satisfacer las necesidades alimenticias de la población actual¹. La papa *S. tuberosum* es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial y ventajosamente ha sido una de las primeras especies vegetales en ser desarrolladas por la Biotecnología, esto ha permitido resolver problemas prácticos relacionados con el manejo y su fitomejoramiento. El primer enfoque biotecnológico utilizado para eliminar virus de clones de papa infectados sistémicamente fue posiblemente el cultivo de meristemas; con el paso de los años esta técnica ha sido combinada con la micropropagación *in vitro* para la producción de semillas sanas y libres de cualquier agente fitopatógeno², cabe recalcar que debido a la rápida multiplicación de clones sanos se considera como una parte fundamental para la produc-

ción de semillas en varios países³.

La micropropagación *in vitro* es un método en el cual el material vegetal se replica a través de explantes, entre los principales factores que intervienen en este proceso se pueden mencionar el medio de cultivo, reguladores de crecimiento, asepsia, pH, condiciones de iluminación, tipo de explante, etcétera⁴. La luz es uno de los factores ambientales más indispensable para el crecimiento de la papa, debido a que el crecimiento celular, la morfogénesis y la microtuberización de la papa *in vitro* dependen de la luz; los niveles de irradiación pueden provocar plantas *in vitro* etioladas y cloróticas, mientras que la calidad de luz influye en su morfología⁵.

La luz interviene en la actividad de las fitohormonas puesto que estas sustancias químicas necesitan de condiciones de iluminación específicas para un correcto funcio-

Citation: Silva Agurto C, Leiva Mora M, Sanchez Ortiz N, del Castillo Bastidas D. Influencia de las condiciones de iluminación sobre el establecimiento *in vitro* de yemas de *Solanum tuberosum* L. var. Cecilia. *Revis Bionatura* 2023;8 (3) 9. <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2023.08.03.9>

Received: 28 May 2023 / **Accepted:** 15 July 2023 / **Published:** 15 September 2023

Publisher's Note: Bionatura stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2022 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



namiento, su regulación y metabolismo dependen considerablemente de la intensidad lumínica⁶; además, los cambios morfológicos y fisiológicos de la planta asimismo dependen de la intensidad y calidad de la luz, al estar regulados por las fitohormonas, debido a la interacción que existe entre la intensidad de la luz, las auxinas y citoquininas endógenas, que directa o indirectamente intervienen en la expansión celular, callogénesis, proliferación de brotes, formación de raíces y actividad fotosintética⁷.

Hasta la actualidad, se han utilizado diversos tipos de fuentes de luz, como las lámparas fluorescentes, lámparas de vapor de sodio a alta presión, luces led. Las lámparas fluorescentes proporcionan un amplio espectro de luz y son las más utilizadas para la producción de plantas *in vitro*, sin embargo, presentan inconvenientes como el alto consumo energético, radiación inestable y emisión de calor⁸. La implementación de luces LED en el cultivo *in vitro* es una alternativa a los sistemas convencionales de iluminación, mejoran eficientemente la micropropagación y reducen los costos de producción⁹, la sustitución de lámparas fluorescentes por luces LED puede reducir hasta en un 50% los costos y consumos anuales de electricidad¹⁰.

La papa es una planta que en el sistema *in vitro* requiere de un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad, este fotoperiodo es necesario para los procesos fotosintéticos adecuados¹¹. En cuanto a la proporción adecuada de luz roja y luz azul autores manifiestan que las proporciones que oscilan entre 1:3 y 3:1 son las adecuadas para la mayoría de las plantas^{12,13}. Sin embargo, su utilización individual también muestra efectos positivos en relación al grosor de hojas, diámetro de tallo y peso de tubérculos¹⁴.

En base a la problemática anterior, la presente investigación se propuso evaluar el efecto de diferentes condiciones de iluminación en el establecimiento *in vitro* de yemas de *S. tuberosum* Var. Cecilia para determinar su efecto en el número de nudos, número de hojas, número de brotes por planta, altura de la planta, porcentaje de establecimiento y porcentaje de contaminación.

Materiales y métodos

El experimento se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, ubicado en el cantón Cevallos, provincia de Tungurahua, en el período comprendido de abril-septiembre 2022.

Material vegetal

Se seleccionaron yemas de los tubérculos y cortaron con un bisturí, se colocaron en un frasco esterilizado. El protocolo de desinfección consistió en sumergir las yemas en una solución de etanol al 70% por 30 segundos, luego se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio al 2% por 15 minutos y se realizaron tres enjuagues con agua destilada estéril. Una vez desinfectadas las yemas se colocaron en una placa y se cortaron explantes de 2 nudos, para luego colocarlos en un frasco.

Los explantes se cultivaron en medio MS + 20 g.L⁻¹ de sacarosa y 7 g.L⁻¹ de agar, el pH se ajustó a 5.9, se sembró un explante por tubo de ensayo.

Evaluaciones

Se determinó el número de nudos, número de hojas, número de brotes por planta, altura de la planta, porcentaje de establecimiento y porcentaje de contaminación a los 15 y 30 días del ensayo.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar. Los datos obtenidos de las variables se registraron en el paquete SPSS versión 26.0, se comprobaron si presentaban distribución normal por medio de la prueba de Kolmogorov Smirnov y la homogeneidad de varianza mediante la prueba de Levene. Para las variables que no cumplieron con estos requerimientos, se utilizó la prueba de Kruskal Wallis completada con una prueba de U Mann Whitney. Para un nivel de significación de un 95%.

Resultados

A los 15 y 30 días del ensayo se observó que no existieron diferencias estadísticas significativas sobre el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *S. tuberosum* Var. Cecilia sobre las variables número de nudos y número de hojas por planta; sin embargo, a los 30 días los explantes expuestos a luz blanca fluorescente total y 12 h luz natural + 12 h oscuridad mostraron una mayor altura (Tabla 2 y Figura 1).

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis completada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n = 10$.

Con relación a las variables número de brotes por explante, porcentaje de contaminación y porcentaje de esta-

Tratamientos	Descripción
T1	Oscuridad total
T2	Luz blanca fluorescente total
T3	12 horas luz natural y 12 horas oscuridad

Tabla 1. Tratamientos utilizados en el experimento.

TRATAMIENTOS		NÚMERO DE NUDOS		NÚMERO DE HOJAS		ALTURA (cm)	
		\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
15 días	Oscuridad total	0,6	13,60	1,4	15,20	0,7	16,45
	Luz blanca fluorescente total	0,8	15,95	1,5	15,45	0,7	15,75
	12 horas luz natural y 12 horas oscuridad	0,9	16,95	1,5	15,85	0,5	14,30
30 días	Oscuridad total	2,4	11,20	4,0	11,05	2,2	10,25 b
	Luz blanca fluorescente total	5,8	19,75	9,1	20,25	5,7	20,00 a
	12 horas luz natural y 12 horas oscuridad	4,0	15,55	6,4	15,20	4,5	16,25 ab

Tabla 2. Efecto de las condiciones de iluminación sobre el número de nudos, número de hojas y altura de planta en el establecimiento *in vitro* de yemas de *S. tuberosum* a los 15 y 30 días.

blecimiento, a los 15 y 30 días del ensayo no mostraron diferencias estadísticas significativas entre las condiciones de iluminación (Tabla 3 y Figura 1).

Discusión

La luz es uno de los factores principales dentro del cultivo de tejidos vegetales, de ello depende el crecimiento y desarrollo de las plantas¹⁵; la iluminación artificial es clave en la producción de plantas *in vitro*, siendo las más utilizadas las lámparas fluorescentes, éstas emiten luz omnidireccionalmente lo cual permite obtener una gran uniformidad lumínica¹⁶. La utilización de lámparas fluorescentes de luz blanca cálida indujo una mayor altura en planta, área foliar y peso fresco y seco de plantas de *Cucumis sativus* L., mientras que la luz blanca fluorescente fría produjo un mayor grosor en los tallos¹⁷. En la presente investigación la luz blanca fluorescente mostró una mayor altura de las plantas de *S. tuberosum* a los 30 días.

Autores han señalado que los explantes de *S. tuberosum* expuestos a condiciones de luz total mostraron los mejores resultados para las variables longitud de brote, número de raíces y hojas en comparación con los explantes mantenidos en condiciones de oscuridad total o temporal, también cabe mencionar que las condiciones de oscuridad ocasionaron que las plantas tuvieran un menor número de raíces, hojas y longitud¹⁸. Los resultados obtenidos en esta investigación, demostraron que la mayor longitud de planta se obtuvo con la exposición a luz blanca fluorescente total; además, las plantas en oscuridad tuvieron una menor longitud y se tornaron cloróticos y etiolados.

Mientras que, otros autores señalaron que todos los factores de crecimiento medibles a excepción del número

de hojas y nudos obtuvieron los mejores resultados al mantener los explantes por 30 días expuestos a condiciones de luz solar (con un fotoperiodo de 16 horas luz y 6 horas de oscuridad)¹⁹. También se menciona que el fotoperiodo de 16 horas luz favorece la regeneración *in vitro* y establecimiento de brotes de *S. tuberosum*²⁰. Del mismo modo, para la microtuberización *in vitro* se observó que 16 horas de luz con 8 horas de oscuridad fue el fotoperiodo más recomendable, seguido de las condiciones completas de oscuridad²¹.

En algunas investigaciones se ha señalado que la simulación del espectro solar mediante iluminación artificial LED permitió el desarrollo de plantas con mayor longitud, entrenudos más largos y mayor uniformidad en la longitud de entrenudos por planta²². Los resultados obtenidos indicaron que en las plantas que se expusieron a luz natural también se favoreció la variable altura.

Por otra parte, la luz es un elemento esencial para el crecimiento y desarrollo de plantas en el sistema *in vitro*, en su ensayo probaron diferentes colores de luz LED y encontraron que la luz roja es superior a la luz blanca pues existió un incremento significativo en la longitud de la planta y grosor de las raíces²³. Los resultados mostraron que la combinación de la luz roja y azul aumentaron la masa fresca, masa seca, el diámetro del tallo, el número de láminas, el área foliar, el peso específico de la hoja y el índice de salud de plántulas de patata *in vitro*²⁵.

Conclusiones

Con el uso de la luz blanca fluorescente total y 12 h luz natural + 12 h oscuridad se logró una mayor altura de las plantas lo cual beneficia el establecimiento *in vitro* de yemas de *Solanum tuberosum* L. Var. Cecilia. El uso de

TRATAMIENTOS		NÚMERO DE BROTES		PORCENTAJE DE ESTABLECIMIENTO		PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN	
		\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
15 días	Oscuridad total	0,6	14,50	100	14,50	0	13,50
	Luz blanca fluorescente total	0,7	16,00	100	16,00	0	13,50
	12 horas luz natural y 12 horas oscuridad	0,7	16,00	100	16,00	0	19,50
30 días	Oscuridad total	0,9	13,30	100	13,50	0	13,50
	Luz blanca fluorescente total	1,5	18,10	100	16,50	0	13,50
	12 horas luz natural y 12 horas oscuridad	1,0	15,10	100	16,50	0	19,50

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n = 10$.

Tabla 3. Efecto de las condiciones de iluminación sobre el número de brotes, porcentaje de establecimiento y porcentaje de contaminación en el establecimiento *in vitro* de yemas de *S. tuberosum* a los 15 y 30 días.

oscuridad total en los explantes fue perjudicial al producir plantas cloróticas y con una menor altura.

Contribuciones de los autores

Conceptualización, Catherine Silva Agurto, Metodología, Catherine Silva Agurto y Michel Leiva Mora, software, Catherine Silva Agurto y Nayeli Sánchez Ortiz, validación, Catherine Silva Agurto y Danny del Castillo Bastidas, análisis formal, Catherine Silva Agurto y Danny del Castillo Bastidas; investigación, Catherine Silva Agurto y Michel Leiva Mora; recursos, Michel Leiva Mora, Catherine Silva Agurto y Nayeli Sánchez Ortiz, curado de datos, Michel Leiva Mora, Catherine Silva Agurto; redacción—redacción borrador original, Michel Leiva Mora, Catherine Silva Agurto; redacción, revisión y edición, Michel Leiva Mora, Catherine Silva Agurto, Nayeli Sánchez Ortiz y Danny del Castillo Bastidas; supervisión, Catherine Silva Agurto; administración del proyecto, Michel Leiva Mora, adquisición del financiamiento, Michel Leiva Mora y Catherine Silva Agurto; Todos los autores han leído y están de acuerdo con la versión publicada del manuscrito.

Agradecimientos

Agradecemos al apoyo ofrecido por la coordinadora de investigación Deysi Alexandra Guevara Freire y a las autoridades de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, así como a la Dirección de Investigación y Desarrollo (DIDE-FCAGP) por reconocer y brindar el apoyo a los esfuerzos realizados en este proyecto, mismo que fue autofinanciado por la Ingeniera Catherine Silva Agurto y el Doctor Michel Leiva Mora.

Conflictos de Interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Referencias bibliográficas

- Priyadarshani P, Batra V. Tissue Culture of Potato (*Solanum tuberosum* L.): A review. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 2017; 6(4): 489-495.
- Hajare ST, Chauhan NM, Kassa G. Effect of growth regulators on *in vitro* micropropagation of potato (*Solanum tuberosum* L.) Gudiene and Belete varieties from Ethiopia. *ScientificWorldJournal.* 2021; 2021: 1-9.
- Sunil T, Nitin M, Girum K. Effect of Growth Regulators on *In Vitro* Micropropagation of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Gudiene and Belete Varieties from Ethiopia. *ScientificWorldJournal.* 2021; 2021: 1-8.
- Nasiruddin M, Islam AR. *In vitro* slow-growth conservation for two genotypes of *Solanum tuberosum* L. *Bangladesh J Bot.* 2018; 47(3): 369-380.
- Jiang L, Wang Z, Jin G, Lu D, Li X. Responses of Favorita Potato Plantlets Cultured *In Vitro* under Fluorescent and Light-Emitting Diode (LED) Light Sources. *Am J Potato Res.* 2019; 96: 396-402.
- Chen YM, Huang JZ, Hou TW, Pan I. Effects of light intensity and plant growth regulators on callus proliferation and shoot regeneration in the ornamental succulent *Haworthia*. *Bot Stud.* 2019; 60(10): 1-12.
- Kissoudis C, Seifi A, Yan Z, et al. Ethylene and abscisic acid signaling pathways differentially influence tomato resistance to combined powdery mildew and salt stress. *Front Plant Sci.* 2017; 7: 2009.
- Bello-Bello JJ, Martínez-Estrada E, Caamal-Velázquez JH, Morales-Ramos V. Effect of LED light quality on *in vitro* shoot proliferation and growth of vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews). *Afr J Biotechnol.* 2016; 15(8): 272-277.
- Pawłowska B, Żupnik M, Szewczyk-Taranek B, et al. Impact of LED light sources on morphogenesis and levels of photosynthetic pigments in *Gerbera jamesonii* grown *in vitro*. *Hortic Environ Biotechnol.* 2018; 59: 115-123.



Figura 1. Yemas de *S. tuberosum* Var. Cecilia establecidas *in vitro* bajo condiciones: Oscuridad total (A), luz blanca fluorescente total (B) y 12 horas luz natural + 12 horas oscuridad (C) a los 15 y 30 días.

10. Miler N, Kulus D, Woźny A, et al. Application of wide-spectrum light-emitting diodes in micropropagation of popular ornamental plant species: a study on plant quality and cost reduction. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*. 2018; 55: 89-100.
11. Muñoz M, Díaz O, Reinún W, Winkler A, Quevedo R. Slow growth in vitro culture for conservation of Chilotanum potato germplasm. *Chilean J Agric Res*. 2019; 79(1): 26-35.
12. Zheng L, Van LMC. Long-term effects of red- and blue-light emitting diodes on leaf anatomy and photosynthetic efficiency of three ornamental pot plants. *Front Plant Sci*. 2017; 8: 1-12.
13. Jensen NB, Clausen MR, Kjaer KH. Spectral quality of supplemental LED grow light permanently alters stomatal functioning and chilling tolerance in basil (*Ocimum basilicum* L.). *Scientia Horticulturae*. 2018; 227: 38-47.
14. Chen LL, Zhang K, Gong XC, et al. Effects of different LEDs light spectrum on the growth, leaf anatomy, and chloroplast ultrastructure of potato plantlets in vitro and minituber production after transplanting in the greenhouse. *J Integr Agric*. 2020; 19(1): 108-119.
15. Batista DS, Felipe SHS, Silva TD, et al. Light quality in plant tissue culture: does it matter? *In Vitro Cell Dev Biol Plant*. 2018; 54: 195-215.
16. Gago-Calderón A, Barceló-Muñoz M, Barceló-Muñoz A. Descripción y estandarización de la iluminación LED para su utilización en el cultivo in vitro de plantas. *Rev Colomb Cienc Hortíc*. 2021; 15(2): e11912.
17. Zazueta Torres ND, Ayala Tafoya F, González Morales S, Velázquez Alcaraz TDJ, Yáñez Juárez MG, Partida Ruvalcaba L. Crecimiento in vitro de *Sclerotium rolfsii* en respuesta a la calidad de luz de tres tipos de lámparas fluorescentes. *Rev Mex Cienc Agríc*. 2021; 12(1): 141-147.
18. Mng'omba A, Mwale H, Chimzinga B, Longwe K, Muhota P. In vitro potato (*Solanum tuberosum* L.) growth under different orientation and light/dark exposure conditions. *Afr J Biotechnol*. 2017; 16(34): 1784-1790.
19. Rehana S, Ahmed F, Zeba N, Husna A, Hossain F. Effect of sunlight and artificial light on micropropagation of potato (*Solanum tuberosum* L.) plantlets. *Arch Agric Environ Sci*. 2018; 3(2): 151-156.
20. Zhang Z, Wang QC, Spetz C, Blystad DR. In vitro therapies for virus elimination of potato-valuable germplasm in Norway. *Sci Hortic*. 2019; 249: 7-14.
21. Ashraf S, Mustafa G, Khan MS, Aslam M. Exploitation of varying light regimes and high sucrose concentrations for in vitro tuberization in potato: a step towards disease-free seed production. *Pak J Phytopathol*. 2022; 34(1): 47-56.
22. Grishchenko OV, Subbotin EP, Gafitskaya IV, et al. Growth of micropropagated *Solanum tuberosum* L. plantlets under artificial solar spectrum and different mono- and polychromatic LED lights. *Hortic Plant J*. 2022; 8(2): 205-214.
23. Karmakar S, Zaman R, Nasiruddin M, Hossain M. Effect of different illumination types on in vitro microplants of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Eur J Biotechnol Biosci*. 2018; 6(6): 76-80.
24. Li R, Huang W, Wang X, Liu X, Xu Z. Effects of yellow, green, and different blue spectra on growth of potato plantlets in vitro. *HortScience*. 2018; 53(4): 541-546.