

Navarro Paz, Valentín

Análisis de la utilización de luz emitida por lámparas de diodo (LEDs) en la producción in vitro para la obtención de semilla prebásica de Solanum tuberosum

**Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria
Facultad de Ciencias Agrarias**

Este documento está disponible en la Biblioteca Digital de la Universidad Católica Argentina, repositorio institucional desarrollado por la Biblioteca Central "San Benito Abad". Su objetivo es difundir y preservar la producción intelectual de la Institución.

La Biblioteca posee la autorización del autor para su divulgación en línea.

Cómo citar el documento:

Navarro Paz, V. 2013. Análisis de la utilización de luz emitida por lámparas de diodo (LEDs) en la producción in vitro para la obtención de semilla prebásica de Solanum tuberosum [en línea]. Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina. Disponible en: <http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/analisis-utilizacion-luz-emitida.pdf> [Fecha de consulta:.....]



UCA

Facultad de Ciencias Agrarias

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA ARGENTINA

Facultad de Ciencias Agrarias

Ingeniería en Producción Agropecuaria

Análisis de la utilización de luz emitida por lámparas de diodo (LEDs) en la producción in vitro para la obtención de semilla prebásica de *Solanum tuberosum*.

**Trabajo Final de Graduación para optar por el título de:
Ingeniero en Producción Agropecuaria**

Autor: Valentín Navarro Paz

Profesor Tutor: Lic. MSc. Manuel Conde

Cotutor: Ing. Agrónoma Ana María Escarrá

Fecha: 02/05/2013

Resumen

Las lámparas de diodo (LEDs) son la más reciente tecnología en ingresar al campo de la agricultura en ambientes controlados. Debido a su elevadísima eficiencia en la transformación de energía eléctrica en lumínica, con una casi nula disipación de radiación en forma de calor, prometen tener un gran potencial para mejorar sustancialmente la performance productiva, reduciendo los costos totales de la iluminación. En este trabajo se propuso estudiar las luces LED como fuente de luz alternativa en el ciclo de producción *in vitro* de plántulas de papa *Solanum tuberosum*. Se estableció un sistema de luz convencional compuesto por tubos de luz fluorescente, y otros dos sistemas de dispositivos LEDs. El primer dispositivo LED emite luz blanca, azul y roja, y el segundo, luz blanca y roja. Por 21 días se mantuvieron cuatro frascos, por tratamiento, con plántulas de papa en medio de cultivo Murashige creciendo bajo las distintas fuentes lumínicas en una cámara de crecimiento con condiciones ambientales controladas (temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ y humedad relativa de $50 \pm 10\%$). Se evaluó el peso fresco, peso seco, longitud del tallo, contenido de clorofila en hoja de las plántulas, y se analizó el consumo eléctrico de los sistemas lumínicos. En todos los parámetros, los dispositivos LEDs demostraron presentar una gran adaptabilidad a las necesidades de las plántulas de papa, superando en la mayoría de las variables en estudio, la performance lograda por los tubos de luz fluorescente. Si bien se deben ampliar las investigaciones sobre las respuestas de las plántulas de papa, a la luz emitida por los LEDs en los estadios siguientes en la obtención de semilla prebásica de *Solanum tuberosum*, los resultados indicarían que esta nueva tecnología es una de las claves para lograr un proceso de producción eficiente y sustentable.

Agradecimientos

A lo largo de la tesis muchas han sido las personas que, de manera directa e indirecta, me han ayudado. El haber terminado este trabajo simboliza la conclusión de una etapa hermosa de mi vida, la universitaria, e invita a empezar una nueva etapa, la profesional.

En primer lugar agradezco especialmente a mis tutores; Lic. MSc. Manuel Conde y la Ing. Agrónoma Ana María Escarrá, quienes sin su apoyo incondicional este trabajo no hubiese sido posible de realizar. También extendiendo mi agradecimiento a todo el equipo de trabajo del Laboratorio de Diagnósticos Vegetales S.A., ya que en todo momento me brindaron sus servicios y tiempo para que yo pueda llevar a cabo mis ensayos.

En segundo lugar, le doy gracias especialmente a mi gran amigo Santiago Pera Paz. Su ayuda fue simplemente imprescindible e inmensa, siempre se dispuso a ayudarme, aún cuando él también estaba concluyendo su tesis, me brindaba su tiempo para lo que sea. Sin importar que hubiera que hacer se ofrecía a hacerlo y lo hacía bien, como si fuese su tesis la que se estaba realizando. En particular cuando hubo que calcular el peso seco de las, extremadamente livianas, plántulas de papa. Además, en gran parte, la calidad de la redacción de este trabajo es fruto de sus observaciones y oportunas intervenciones. Me alegra que haya estado conmigo a lo largo de la carrera. Debo agradecer al laboratorio LEAA, principalmente a la Ing. P. A. María Paula Arcuri, quien de manera inmediata supo ofrecerme su ayuda para que pudiera concluir con la obtención de los resultados de peso seco.

En tercer lugar, le doy las gracias a mi novia Josefina Gasco Lantarón y su familia, ellos siempre me han ayudado de todas las maneras directas e indirectas que puedan existir. Gracias por su compañía y por estar siempre poniendo a mi servicio sus computadoras, tiempo, y compartiendo grandes momentos de alegría.

Por último, quiero agradecer profundamente a mi familia. A mi hermano Gastón, la mejor persona que pueda existir, su sabiduría siempre me ilumina cuando los problemas tienden a oscurecer mi panorama, y su cariño siempre me saca a flote. A mi padre Gastón, le debo más que las gracias por ayudarme a realizar esta tesis, le debo todo. Su trabajo incasable día a día hizo posible que yo pudiese estudiar y disfrutar, sin más preocupaciones, de esta carrera, de esta etapa tan linda. Desde lo silencioso siempre se ha esforzado por darme todo lo que he necesitado, desde lo material hasta lo más importante, lo trascendental de sus enseñanzas, las que en su mayoría siguen su obrar. A mi queridísima madre Marcela, aún no estando presente físicamente en esta última etapa de mi carrera, desde el cielo, junto a Dios, siempre me ha guiado y acompañado. Inculco en mí todo lo bueno y justo. Sin ella no hubiese sido posible nada. Desde el primer día me ayudo, aún cuando yo no tenía la convicción que podía lograr terminar una carrera acá en Argentina, ella siempre estuvo a mi lado, brindándome todo el amor que se pueda imaginar. Por todo esto y mucho más... gracias Mamá.

Índice

Resumen	I
Agradecimientos	II
Índice	III
Introducción	1
Objetivo General	4
Objetivos Específicos.....	4
Materiales y Métodos	5
Material vegetal y condiciones de cultivo.....	5
Tratamientos lumínicos.....	5
Diseño Experimental y Análisis Estadístico	6
Resultados.....	7
Discusión	12
Conclusiones.....	16
Bibliografía	17
Anexos	19
Anexo 1: Estadística descriptiva	19
Anexo 2: Análisis de homocedasticidad	20
Anexo 2: Análisis de homocedasticidad (continuación)	21
Anexo 3: Análisis de Normalidad	23
Anexo 4: Comparación de las variables respuesta entre tratamientos	25
Anexo 5: Valores de p-value para las distintas pruebas analíticas realizadas	27
Anexo 6: Imágenes de la primera etapa del ensayo	28
Anexo 7: Imágenes de la etapa final del ensayo luego de 21 días de crecimiento – Toma de Datos.....	29

Introducción

La papa (*Solanum tuberosum*) es originaria de América del Sur, más precisamente de la región andina de Perú y Chile. En la Argentina existen numerosas especies autóctonas que fueron cultivadas durante siglos por los habitantes de estas latitudes, así como también hubo nuevas variedades introducidas desde Chile a través de sus indígenas. Sin embargo, ninguna de las variedades autóctonas o introducidas de los países limítrofes fue incorporada a las regiones productoras argentinas. Por el contrario, las variedades provenían de América del Norte y Europa, en donde se había realizado un continuo mejoramiento de la papa cultivada en Sudamérica (Penna y otros, 2000). Hasta mediados de la década de 1970, la producción nacional de papa se caracterizaba por depender de las importaciones masivas de semillas, con lo cual se generó una imagen de que la papa era un cultivo importado y quedaba fundamentalmente del aporte extranjero para el desarrollo y mantenimiento de los niveles productivos (Penna y otros, 2000; Mosciaro, 2009). Por otro lado, la producción de semilla se llevaba a cabo dentro de las mismas aéreas de producción de papa para consumo, lo que promovió la aparición de problemas fitosanitarios lo cual impedía que pudiera ser multiplicada por más de dos o tres campañas. Debido a esta situación, se inició la búsqueda de zonas ecológicas que pudieran diferenciarse y en las que la obtención de la semilla de calidad no se viera afectada. La primera región restringida para la producción de semilla básica y prebásica de papa fue en la localidad de Tafi del Valle, Tucumán, luego se le sumaron Las Estancias (Catamarca), Malargüe (Mendoza), el Valle de Río Colorado (Buenos Aires), y por último en la década de 1990, Tres Arroyos, San Cayetano (Buenos Aires), y Pampa de los Gigantes (Córdoba). Todas estas aéreas contaban con un marco legal tendiente a asegurar los niveles exigidos de calidad y sanidad para la producción de semilla básica y pre básica. Es así que, actualmente la producción de semilla tiene como principal destino las necesidades de plantación nacional y solo una pequeña parte se exporta, principalmente a países limítrofes, ya que debido a la existencia de barreras sanitarias y demás factores arancelarios se ve dificultada su ingreso al mercado norteamericano y europeo (Mosciaro, 2009). Según la FAO (2013) el área promedio sembrada de papa entre los años 2006 y 2011 en la Argentina fue de 69.322 hectáreas, y la producción anual de papa para consumo promedio durante ese mismo período fue de 1.977.743 toneladas, mientras que la producción de semillas prebásicas fue de 63.000 toneladas. Es posible pensar en un aumento de todos estos indicadores productivos, ya que la Argentina cuenta con el privilegio de reunir todas las condiciones edafo-climáticas para lograr una producción sustentable e integral del cultivo de papa.

En la actualidad, la papa es considerada el cuarto cultivo más importante en la alimentación humana (Cabello y otros, 2012), siendo únicamente superada por el trigo, el maíz y el arroz. Asimismo, es producida en más de 130 países (Quiñones y otros, 2004) y su producción anual alcanza las 330 millones de toneladas (Cabello y otros, 2012). Tanto es así que, debido a su gran importancia en la alimentación, es mundialmente conocida como el segundo pan de la

humanidad (Pop y Cachita, 2011). Principalmente se reproduce comercialmente de forma vegetativa (Quiñones y otros, 2004), comenzando con la obtención de semilla prebásica o mini tubérculo bajo condiciones controladas. Esta modalidad de reproducción permite cubrir rápidamente vastas superficies de siembra para poder suplir la demanda mundial de papa. Por otra parte, implica tener especial atención sobre la sanidad del material que se siembra, ya que en caso de que el cultivo contraiga alguna enfermedad, ésta se propagará rápidamente en las generaciones siguientes y la producción se verá perjudicada (Castro y Contreras, 2011). Previendo esta situación, se utiliza como material de origen plántulas de papa libre de patógenos. Éstas son obtenidas mediante la aplicación de diversas técnicas de cultivo *in vitro* llevadas a cabo en cámaras de crecimiento de ambiente controlado (Quiñones y otros, 2004) y representan un importante progreso en la obtención de semillas de papa saludables (Chiru y otros, 2012). Luego de cumplir con su ciclo *in vitro*, las plántulas de *Solanum tuberosum* son plantadas y cultivadas en ambientes controlados como lo son los invernáculos, que brindan las condiciones ideales para que se produzca la tuberización y obtener los mini tubérculos o semillas prebásicas con sanidad garantizada (Pérez y otros, 2008). Desde la etapa inicial de obtención de semillas prebásicas hasta su fase final de producción a campo, el cultivo de papa se caracteriza por utilizar altas cantidades de insumos en todo su proceso productivo.

Una de las principales adversidades que afrontan los países en desarrollo como la Argentina es la crisis energética. Por tanto, es necesario generar un compromiso para convertir la economía en una Eco-economía (Pop y Cachita, 2011). En la actualidad, uno de los temas más discutidos en el área de la agricultura es el de la iluminación de los ambientes controlados para la producción vegetal. La luz cumple un rol muy importante en la vida de las plantas. La intensidad y naturaleza de las longitudes de ondas que componen el espectro lumínico actúan de manera diferente en la fotosíntesis, crecimiento, transpiración y respiración de las plantas. Además, regula la apertura y cierre de los estomas, condiciona la formación de clorofila, inhibe la germinación. En los cultivos de tejido vegetal *in vitro*, la fotosíntesis se encuentra prácticamente reducida y el requerimiento de energía necesario para los procesos vitales de la planta se obtiene usualmente a través de la hidrólisis de sacarosa presente en el medio de cultivo (Vidican y Cachita, 2010), como es el caso del cultivo de Murashige (Murashige & Skoog, 1962). En dichas condiciones, la luz estimula el crecimiento y la morfogénesis de las plántulas *in vitro*.

En años recientes, se ha puesto especial énfasis en investigar y desarrollar nuevas tecnologías en los sistemas de iluminación en invernáculos a fin de poder optimizar la producción y calidad de plantas, así como también consumir menos energía (Johansen y otros, 2011). Esto se debe a que los factores relacionados con el sistema de iluminación artificial son los que más afectan al costo de producción (Bourget, 2008). Hoy en día, los tubos de luz fluorescente son el sistema lumínico artificial más utilizado en el cultivo *in vitro* de plántulas sanas de papa (Jao y Fang, 2003). Uno de los motivos principales es que resultan más económicos que otras fuentes de luz, como lo son las lámparas incandescentes. Sin embargo, los tubos de luz fluorescente presentan la desventaja que, por su emisión de ondas infrarrojas, aumentan la temperatura dentro de la cámara de cultivo. Consecuentemente, se vuelve imprescindible usar sistemas de enfriamiento, lo que

resulta en un incremento del costo de producción total (Pop y Cachita, 2011). Es así que, surge el desafío de encontrar una fuente de luz que presente una mejor conversión de energía eléctrica en lumínica y que genere una mayor eficiencia fotosintética, lo cual implicaría un gran beneficio tanto para la investigación como para la producción comercial de cultivos (Bula y otros, 1991). Esto se ve sustentado en que la intensidad y calidad de luz son dos de los factores que influyen en la morfología y el crecimiento de las plántulas de papa *in vitro* (Jao y Fang, 2004 b).

Las lámparas de diodo (LEDs) son la más reciente tecnología en ingresar al campo de la agricultura en ambientes controlados. Prometen tener un gran potencial para mejorar sustancialmente la performance productiva, reduciendo los costos totales de la iluminación (Bourget, 2008). La tecnología LED se caracteriza por presentar una elevadísima eficiencia en la transformación de energía eléctrica en lumínica, siendo casi nula la disipación de radiación en forma de calor (Jao y Fang, 2004 a). Se ha demostrado que los LEDs de luz blanca son ocho veces más eficientes en convertir la energía eléctrica en lumínica que los bulbos de luz incandescente. Esta alta eficiencia podría traducirse en altos ahorros de energía y por ende, presentarse como una solución real para el problema de la crisis energética mundial (DenBarrs, 2008). Además, los dispositivos LEDs posibilitan la emisión de longitudes de onda mono cromáticas, lo cual permite brindar a las plántulas de papa una fuente de luz ajustada a las necesidades de las mismas, aumentando aun más la eficiencia de todo el proceso productivo (Jao y otros, 2005). Por otra parte, debido a su pequeño tamaño brindan una enorme flexibilidad al momento de diseñar el sistema lumínico. Esto se traduce en un aumento de la eficiencia de la utilización del espacio en comparación con otras fuentes de luz como los tubos fluorescentes y las lámparas incandescentes (Bourget, 2008). Dentro de de las numerosas ventajas que presentan los dispositivos LEDs, también se puede destacar su reducido peso, bajo consumo eléctrico, instantáneo encendido y apagado, y una larga vida útil (Jao y Fang, 2003). Al mismo tiempo y desde el punto de vista ecológico, carecen en su composición de productos considerados peligrosos (Bourget, 2008). Cabe destacar que los sistemas LED son una tecnología relativamente nueva en lo que se refiere a la iluminación de plantas y, por consiguiente, se necesita mucha investigación por delante para determinar su mejor uso y aplicación (Lynn, 2012).

En los últimos años se han realizado varias investigaciones sobre los efectos de las luces LEDs tales como la síntesis de clorofila, fotosíntesis y foto morfogénesis. Además, cultivos como la lechuga, pimienta, espinaca, fresas, y pepino reportaron crecimiento satisfactorio (Jao y Fang, 2003). Después de la invención del LED azul en 1994 y en los siguientes 10 años, la intensidad lumínica de los LEDs de longitud de onda azul y rojo seguía siendo muy débil para la producción vegetal. Sin embargo, se utilizaron en la producción de plántulas *in vitro* (Fang y otros, 2008). Por otro lado, numerosos estudios fueron realizados en la Universidad de Wisconsin, la Universidad de Purdue e inclusive el Centro Espacial Kennedy de la NASA. El propósito inicial de estos estudios fue examinar la utilidad de los LEDs, como fuente de luz única o alternativa, para el crecimiento de plantas en el espacio como soporte de vida en otros planetas (Massa y otros, 2008). Recientemente, se han generado grandes avances tecnológicos en el campo de las LEDs ultra brillantes. Este es el caso de “Orbital

Technologies Corporation” (Orbitec) ubicada en Madison, (Wisconsin, Estados Unidos), donde se han descrito numerosos modelos de LEDs (*Sunbow Science Research Lamp; ORBITEC’s standard 4’ LED single wave length bars*) que se adaptan a diversas especies de plantas. Estos dispositivos han brindado soluciones simples y flexibles para la iluminación en ambientes de condiciones controladas (Orbitec, 2012).

En el contexto planteado, se evaluó el crecimiento y desarrollo de las plántulas de papa cultivadas *in vitro* dentro de un programa de obtención de semilla prebásica o mini tubérculo libre de patógenos, sustituyendo las lámparas fluorescentes por dispositivos LEDs como fuente de luz artificial.

Objetivo General

Evaluar el efecto de la sustitución de lámparas de luz fluorescente por sistemas de dispositivos LEDs durante el ciclo de producción *in vitro* de plántulas de papa *Solanum tuberosum*.

Objetivos Específicos

- Determinar si existen diferencias significativas entre las fuentes de luz utilizadas para los distintos parámetros en observación.
- Analizar el consumo eléctrico de los distintos dispositivos lumínicos utilizados.
- Discutir la utilización de los dispositivos LEDs como una herramienta para la mejora en el desempeño ambiental de la empresa.

Materiales y Métodos

El proyecto experimental se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio Diagnósticos Vegetales SA, ubicado en la localidad de Mar del Plata, Provincia de Buenos Aires. La empresa Diagnósticos Vegetales SA cuenta con más de treinta años de experiencia en la prestación de servicios de diagnóstico de patógenos en papa, la producción de material de propagación sano de papa (plántulas y mini tubérculos), el mantenimiento *in vitro* de germoplasma de papa, la asistencia técnica para la producción de semilla de papa y la transferencia de tecnologías a empresas de producción de semilla de papa.

Material vegetal y condiciones de cultivo

Se obtuvieron yemas y meristemas sanos de papa *Solanum tuberosum* de la variedad “Spunta”, y se las cultivó *in vitro* en frascos de material vítreo con tapa semitransparente de 12 cm de altura y 6,2 cm de diámetro. En cada frasco se colocaron 9 yemas y meristemas al azar en medio de cultivo Murashige (Murashige y Skoog, 1962). Los frascos se dispusieron en una cámara de crecimiento con condiciones ambientales controladas, a una temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ y humedad relativa de $50 \pm 10\%$, por un lapso de 21 días.

Tratamientos lumínicos

Las plántulas *in vitro* fueron sometidas a un fotoperiodo de 16/8 horas (día/noche). Todos los frascos de los distintos tratamientos fueron ubicados equidistantemente entre sí. La distancia entre éstos y la fuente de luz se mantuvo constante e igual para todos los tratamientos. El estante de prueba iluminado con LEDs es de $0,42\text{ m}^2$ mientras que, el iluminado por los tubos de luz fluorescentes es de $0,72\text{ m}^2$. Antes de colocarlos frascos en sus estantes correspondientes, se midió el nivel de iluminación o la iluminancia con el instrumento *LUX Light Meter DL-204*. Más adelante, se procedió a medir de la misma forma, la Radiación Fotosintéticamente Activa (RFA) con un cuantómetro *FIELDSCOUT Quantum Light Meter*. Los cultivos *in vitro* fueron sometidos a tres tipos de tratamiento lumínico diferentes.

- Tratamiento Control: tres tubos de luz fluorescente de 36 watts cada uno. Iluminancia: 2940 lux, RFA: $95\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$. Emite en su totalidad luz blanca que corresponde al espectro de la luz visible que se encuentra comprendida dentro del rango de los 430 nm – 700 nm.

- Tratamiento 1: placa de 54 dispositivos LEDs Rojo + Azul + Blanco cuyo consumo es de 23 watts. Emiten mayoritariamente luz de longitud de onda correspondiente al azul y al rojo. Iluminancia: 2220 lux. RFA: $270\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$. Se compone en un 7,4 % de dispositivos de color blanco (380 nm – 770 nm), en un

20,4 % de dispositivos de color azul (470 nm), y en un 72,2 % de dispositivos de color rojo (660 nm).

- Tratamiento 2: placa de 54 dispositivos LEDs Blanco + Rojo cuyo consumo es de 23 watts. Emiten luz de longitud de onda correspondiente al blanco y al rojo. Iluminancia: 5210 lux. RFA: $235 \mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$. Se compone en un 7,4 % de dispositivos de color rojo (660 nm), y en un 92,6% de dispositivos de color blanco (380 nm – 770 nm).

Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Se determinó en cada uno de los ensayos independientes en observación; el peso fresco, peso seco, longitud del tallo, número de hojas y el contenido de clorofila. La duración del periodo de observación fue de 21 días, correspondiente al ciclo *in vitro* de las plántulas en el programa para la obtención de semilla prebásica sana. Se midió la longitud del tallo principal de cada plántula y luego se promedió por frasco. El número de hojas fue calculado para cada plántula a partir de la primera hoja basal, y luego promediado por frasco. Las hojas pertenecientes a las ramificaciones también fueron contabilizadas. El contenido de clorofila fue medido en las hojas de mayor desarrollo. Para esta medición se utilizó el instrumento *Minolta SPAD 502 plus*, y se realizaron tres lecturas consecutivas sobre la misma hoja que luego fueron promediadas para obtener un resultado por plántula que luego se promedió por frasco. A continuación, se obtuvo el peso fresco de cada plántula en forma individual y luego se promedió por frasco, se procuró secar las plántulas del gel proveniente del cultivo Murashige a fin de que no incida en el resultado. Luego se envolvieron en papel de aluminio, se colocaron a secar en un horno a 65 °C por tres días y se volvieron a pesar, obteniendo de este modo el peso seco. Por último, se estimó el consumo eléctrico de cada tratamiento con un contador (*Digital Multimeter*).

Para todas las variables en estudio se realizó un Análisis de la Varianza (Balzarini y otros, 2008) en un diseño completamente aleatorizado (DCA). En total se realizaron 3 tratamientos con cuatro replicas cada uno. Las comparaciones entre tratamientos se efectuaron utilizando la prueba de Tukey. Se consideraron significativas aquellas pruebas con $p < 0,05$. Todos los análisis estadísticos fueron efectuados utilizando el programa estadístico Infostat (versión 2012).

Resultados

A partir de los ensayos realizados en función de los distintos tipos de fuente de luz utilizados, se evaluaron distintos parámetros que describen el crecimiento y desarrollo de las plántulas de papa cultivadas *in vitro* en ambiente controlado (Figura 19).

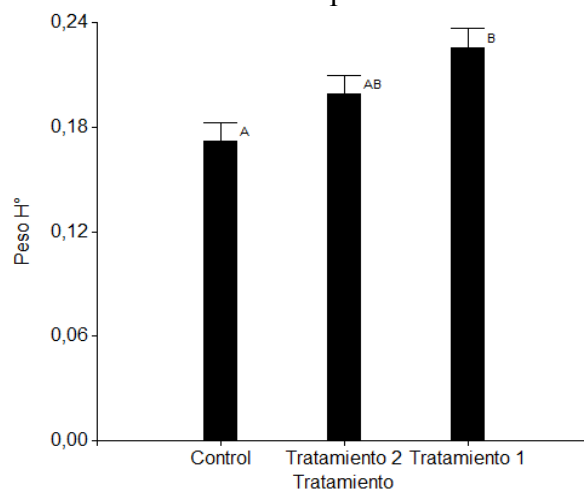
En primer lugar, se pudo calcular el peso fresco. Las plántulas de tratamiento 1 obtuvieron un peso fresco significativamente mayor (27,78 % en promedio) a las plántulas del tratamiento control (Tabla 1). Cabe destacar que las plántulas del tratamiento 2 dieron un valor intermedio entre el Control y el tratamiento 1, y no podemos afirmar que haya diferencias significativas entre este tratamiento con respecto a los otros dos (Figura 1).

Tabla 1. Efecto de la fuente de luz en el peso fresco de las plántulas.

	Control n=4	Tratamiento 2 n=4	Tratamiento 1 n=4
Peso H° (gramos plántula ⁻¹)	0,18 (0,01) ^A	0,20 (0,01) ^{AB}	0,23 (0,01) ^B

Letras distintas indican diferencias significativas (p < 0,05).

Figura 1. Efecto de la fuente de luz en el peso húmedo de las plántulas.



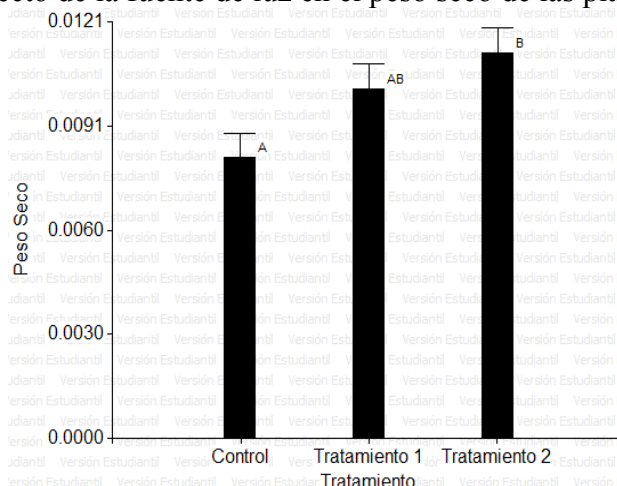
Luego de 21 días de cultivo in vitro, en función de los tratamientos control, 1 y 2, se realizó la determinación del peso fresco (gramos plántula⁻¹) de las plántulas de papa. Letras distintas indican diferencias significativas (p < 0,05).

Por otro lado, luego de secar las plántulas se obtuvo el peso seco de las mismas. Se pudo determinar que las plántulas de tratamiento 2 obtuvieron un peso seco significativamente mayor (27,67 % en promedio) a las plántulas del tratamiento control (Tabla 2). Sin embargo, las plántulas del tratamiento 1 dieron un valor intermedio entre el Control y el tratamiento 2, y no se puede afirmar que haya diferencias significativas entre este tratamiento con respecto a los otros dos (Figura 2).

Tabla 2. Efecto de la fuente de luz en el peso seco de las plántulas.

	Control n=4	Tratamiento 1 n=4	Tratamiento 2 n=4
Peso Seco (gramos plántula ⁻¹)	0,0081 (0,00) ^A	0,0101 (0,01) ^{AB}	0,0112 (0,01) ^B

Figura 2. Efecto de la fuente de luz en el peso seco de las plántulas.



Luego de 21 días de cultivo *in vitro*, en función de los tratamientos control, 1 y 2, se realizó la determinación del peso seco (gramos plántula⁻¹) de las plántulas de papa. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

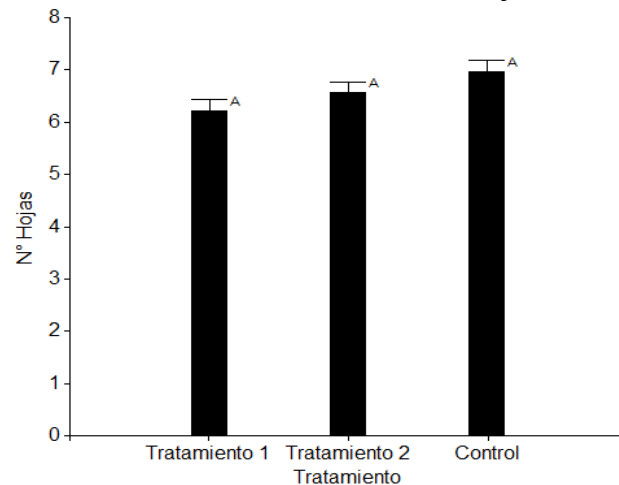
Posteriormente, tal como se puede visualizar en la tabla 3, se procedió a cuantificar el número de hojas por plántula. En el tratamiento 1 fue de 6,22 hojas por plántula en promedio, mientras que en el tratamiento 2 fue de 6,56 hojas y, por último, en el tratamiento control fue de 6,97. Estadísticamente no se encontraron diferencias significativas para ninguno de los tres tratamientos lumínicos ($p = 0,0914$).

Tabla 3. Efecto de la fuente de luz en el número de hojas de las plántulas.

	Tratamiento 1 n=4	Tratamiento 2 n=4	Control n=4
N° de Hojas (hojas plántula ⁻¹)	6,22 (0,21) ^A	6,56 (0,21) ^A	6,97 (0,21) ^A

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Figura 3. Efecto de la fuente de luz en el número de hojas de las plántulas.



Luego de 21 días de cultivo *in vitro*, en función de los tratamientos control, 1 y 2, se realizó la determinación del número de hojas de las plántulas de papa. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

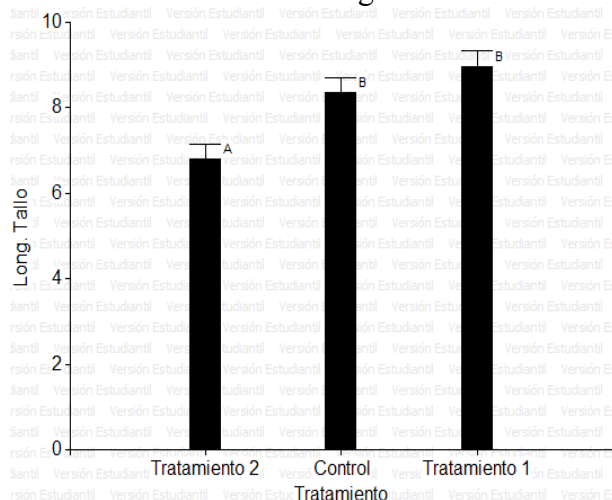
Más adelante, una vez separadas las plántulas (Figura 5), se midió el largo del tallo. El menor desarrollo se constató en el tratamiento 2, con una longitud de 6,79 cm (Tabla 4). Sin embargo, tanto el control como tratamiento 1 no presentaron diferencias significativas entre sí (Figura 4).

Tabla 4. Efecto de la fuente de luz en la longitud del tallo de las plántulas.

	Tratamiento 2 n=4	Control n=4	Tratamiento 1 n=4
Longitud Tallo (cm plántula ⁻¹)	6,79 (0,36) ^A	8,35 (0,36) ^B	8,97 (0,36) ^B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Figura 4. Efecto de la fuente de luz en la longitud del tallo de las plántulas.



Luego de 21 días de cultivo *in vitro*, en función de los tratamientos control, 1 y 2, se midió el largo del tallo (cm plántula⁻¹) de las plántulas de papa. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Figura 5. Plántulas de papa del tratamiento 1 luego de 21 días de cultivo *in vitro*.



Plántulas de papa cosechadas puestas sobre una bandeja de papel absorbente.

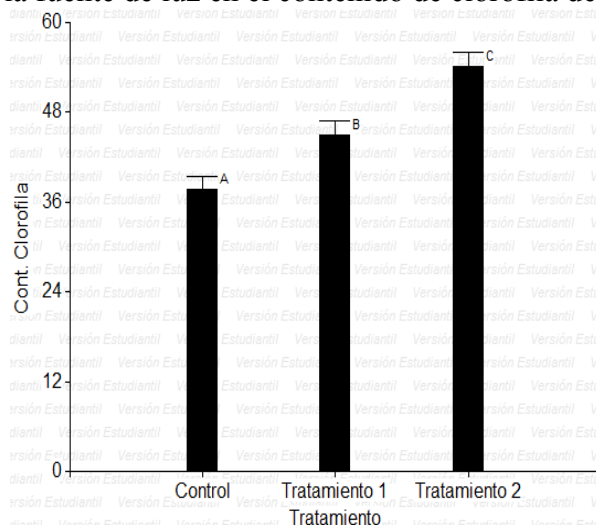
Luego se analizó el contenido de clorofila (SPAD) en hoja. Las plántulas del tratamiento control fueron las que presentaron menor contenido de clorofila, con un valor promedio de 37,66 unidades SPAD, seguidas por las del tratamiento 1 (+19,4% en promedio). Las plántulas del tratamiento 2 fueron las de mayor contenido de clorofila con un valor de 54,13 unidades SPAD (Tabla 1). En valores absolutos, el contenido de clorofila en las hojas de las plántulas del tratamiento 2, un 47,65% mayor en promedio que el Control y un 20,37% mayor que el tratamiento 1 (Figura 6, 7).

Tabla 5. Efecto de la fuente de luz en el contenido de clorofila de las plántulas.

	Control n=4	Tratamiento 1 n=4	Tratamiento 2 n=4
Contenido de Clorofila (unidades SPAD)	37,66 (1,84) ^A	44,97 (1,84) ^B	54,13 (1,84) ^C

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Figura 6. Efecto de la fuente de luz en el contenido de clorofila de las plántulas.



*Luego de 21 días de cultivo *in vitro*, en función de los tratamientos control, 1 y 2, se midió el contenido de clorofila (unidades SPAD) en hoja de las plántulas de papa. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).*

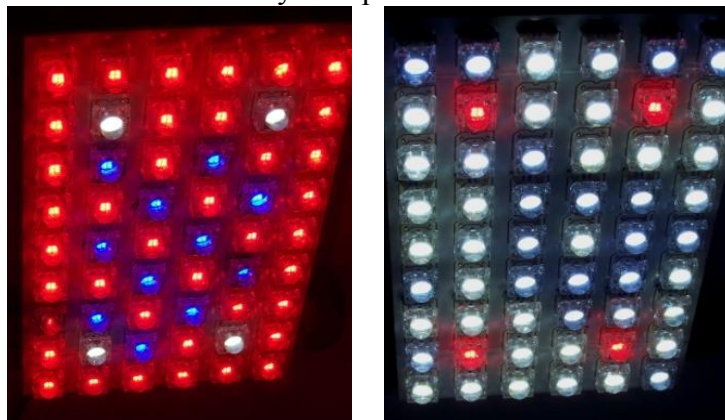
Figura 7. Plántulas de papa del tratamiento 1 y 2 respectivamente, luego de 21 días de *cultivo in vitro*.



Plántulas de papa, correspondientes a los tratamientos 1 y 2 respectivamente, las cuales fueron retiradas de los frascos y se les midió el contenido de clorofila en hoja con el instrumento Minolta SPAD 502 plus. Tanto en las hojas como en los tallos de las plántulas una gran pigmentación correspondiente al alto contenido de clorofila. Además se puede observar un gran desarrollo foliar.

Por último, se estudió el consumo eléctrico de los distintos tratamientos. En función de los parámetros definidos, se puede calcular que el consumo eléctrico de las dos placas de 54 dispositivos LEDs cada una, fue aproximadamente de 55 watts por metro cuadrado. Por otro lado, el consumo de los tres tubos de luz fluorescente, habitualmente utilizados para el crecimiento vegetativo de las plántulas durante su ciclo *in vitro*, fue de 150 watts por metro cuadrado.

Figura 8. Dispositivos LEDs utilizados durante los ensayos correspondientes al tratamiento 1 y 2 respectivamente.



Placa con luces LEDs utilizados durante los ensayos, cada una contiene 54 dispositivos. Se puede visualizar, los colores correspondientes a las longitudes de ondas, azul, rojo y blanco (tratamiento 1) y blanca y roja (tratamiento 2), así como también su distribución.

Discusión

En 2008, Folta y Childers constataron que, cuando se cultivaba la fresa diploide *Fragaria vesca* bajo luz LED de color azul y rojo en distintas proporciones, el peso húmedo de las plántulas era mayor que cuando se utilizaba solo una longitud de onda, ya sea 100% correspondiente al azul o 100% al rojo. Esto indicaría que sería necesario pensar en la utilización de distintas proporciones de longitudes de onda que mejor se adapten a cada especie. A través de ensayos preliminares, se pudo constatar que la tecnología LED obtenida en el mercado nacional no contaba con la suficiente potencia para generar el correcto crecimiento y desarrollo de las plántulas. En respuesta a esta situación, se contempló la utilización de dispositivos LEDs blanco, además de los que emitían longitud de onda correspondiente al rojo y el azul. Este tipo de luz, se compone de todas las longitudes de onda del espectro de luz visible. El objetivo de ésta modificación fue en pos de atenuar cualquier tipo de deficiencia de potencia de las luces LEDs azul y rojo que pudiere afectar el desarrollo vegetativo de los cultivos *in vitro* ya que, el mismo es regulado por la calidad y cantidad de luz que recibe (Folta y Childers, 2008).

Al evaluarse el peso húmedo de las plántulas, se pudo constatar que tanto las del tratamiento 1 como las del tratamiento 2 demostraron tener un buen desarrollo vegetal. Por otra parte, cuando se utiliza como fuente de luz el tratamiento 1 se obtiene un peso fresco mayor que con el control. Jao, Lai y Chang (2005) observaron que, en plántulas de *Zantedeschia sp.* cultivadas en similares condiciones, se registraba un mayor peso húmedo total en contraste con las que fueron cultivadas bajo tubos de luz fluorescente. Sin embargo, no se pudo determinar diferencias significativas entre el tratamiento 2 con respecto a los demás tratamientos, lo que hace suponer que en este parámetro las plántulas responden favorablemente a los distintos tipos de luz utilizados, sin importar el tipo de tecnología involucrada.

A partir de las determinaciones de peso seco de los diferentes sistemas lumínicos empleados se observó que, las plántulas del tratamiento 2 presentaban en promedio un peso seco mayor que el control, y en este parámetro las que presentaban un valor intermedio eran las del tratamiento 1. Anteriormente Jao y Fang (2004 a) habían constatado en plántulas de papa que, tras estar 28 días bajo los efectos luces LEDs de longitud de onda azul (460nm) y rojo (645 nm) presentaban mayor peso seco que las plántulas del tratamiento control que crecieron con luz proveniente de tubos fluorescentes de similar características que los utilizados en este proyecto. Los resultados obtenidos arrojaron una acumulación de materia seca un 17% mayor que las plántulas del tratamiento control, mientras que en este ensayo se obtuvo un incremento comparativo del 27,67 % en promedio. Se entiende que habría una estrecha relación entre la utilización de dispositivos LEDs y la asimilación de los compuestos carbonados por parte de las plántulas. Cabe destacar que, el fotoperiodo utilizado en los tratamientos fue el mismo que plantearon Jao y Fang (2004 b), esto se debe a que en la relación 16/8 horas (día/noche) se obtuvieron los mejores crecimientos de plántulas de papa.

Más adelante, los resultados obtenidos luego de contabilizar el número de hojas por plántula indican que, las mismas respondieron de manera correcta al tipo de luz LED sin importar el tipo de longitud de onda que estos dispositivos emitieran puesto que, no se encontraron diferencias significativas para ninguno de los tratamientos. Sin embargo, es relevante destacar que las hojas de las plántulas del tratamiento 1 y 2, presentaron un gran desarrollo vegetativo (Figura 7). Respuesta similar se puede encontrar en el trabajo realizado por Jao y Fang (2003). Este estudio consistía en analizar el crecimiento *in vitro* de plántulas de *Phalaenopsis sp.* cuya fuente de luz provenía de tubos de luz fluorescente y por otro lado, de LEDs que emitían longitudes de onda correspondientes al azul y el rojo. En el número de hojas y el ancho de las mismas no se encontraron diferencias significativas, pero en el largo de las mismas si hubo un mayor desarrollo en las que crecieron en luz LED. Esto es un indicio de que, aún diferenciando la misma cantidad de hojas, el desarrollo posterior es mejor en las plántulas que crecen bajo los efectos de las luces LEDs. El hecho que se desarrollen más las hojas va a permitir que una vez terminada la etapa *in vitro* las plántulas puedan hacer una mejor fotosíntesis al presentar mayor cantidad de tejido fotosintéticamente activo. Por otro lado, basándonos en el trabajo de Pop y Cahita (2011) se puede extrapolar que, para que exista una correcta diferenciación de las hojas, es necesario más de un tipo de longitud de onda. Durante este trabajo se comprobó que, tras ocho semanas de crecimiento, las plántulas que crecían con luz de tubos fluorescentes y LEDs blancas no presentaban diferencias significativas para el número de hojas. Mientras que, las que solamente crecían con luz LED en su totalidad azul o roja presentaban menor diferenciación foliar.

Dentro de los parámetros estudiados el largo del tallo es uno de los de mayor interés. Las características inherentes al mismo son grandes indicadores del crecimiento y desarrollo de las plántulas. Una vez concluidos los ensayos se pudo determinar que los dispositivos LEDs del tratamiento 1 favorecieron el largo del tallo, sin embargo no se pudo encontrar diferencias significativas con el tratamiento control. Jao y Fang (2004) habían constatado que, en plántulas de papa *in vitro*, el mayor largo de tallo se sucedía en aquellas cuya fuente lumínica provenía de dispositivos LEDs de luz roja y azul. En esa oportunidad sí se encontró diferencias a favor de los LEDs versus los tubos de luz fluorescentes para este parámetro. Más adelante, Jao, Lai y Chang (2005) evaluaron este parámetro en plántulas de *Zantedeschia sp.* que crecieron en similares condiciones. En este estudio, el mayor largo de tallo se encontró en plántulas bajo luces LED rojo y azul. Por otro lado, las plántulas del tratamiento 2 presentaron menor largo de tallo en comparación con los otros dos tratamientos, aunque, se observó buen grosor y desarrollo del mismo (Figura 25). Además, la pigmentación era propia de un tallo con alto contenido de clorofila (Figura 7).

Además de tener en cuenta el largo del tallo, el aspecto del mismo, las características visibles, son de gran importancia. Si se observa un tallo clorótico y de poco diámetro, pero de gran longitud, se puede analizar que la intensidad lumínica brindada por la fuente es insuficiente, y por ende la planta tiende a crecer más en altura en desmedro del desarrollo de los demás órganos vegetales. Una vez retiradas las plántulas de los frascos se pudo visualizar con mayor claridad en el tallo que, las pertenecientes al tratamiento 1 como las del control, presentaban un aspecto clorótico (Figura 23, 27).

Haciendo un análisis de las causas de dichos resultados se puede deducir que la iluminancia de los dispositivos del tratamiento 1 (2220 lux), como la de los tubos de luz fluorescentes (2940 lux), pudo no haber satisfecho en calidad e intensidad a las plántulas, y por ende las mismas hayan tenido que desarrollarse más en largo para lograr interceptar mejor la luz. En contraposición, los dispositivos LEDs del tratamiento 2 presentaban una iluminancia de 5210 lux logrando satisfacer de manera adecuada los requerimientos de las plántulas.

Por último, un aspecto que vale la pena destacar es que, tanto en las plántulas del tratamiento 1 como en el control, se encontraron varios casos de nudos con ramificaciones. Se pudo observar que en el tratamiento control un 25% de las plántulas presentaron ramificaciones en alguno de sus nudos (Figura 27). Fenómeno que también se pudo constatar en el 13,9% de las plántulas de tratamiento 1 (Figura 22). Las plántulas del tratamiento 2 no presentaron ramificaciones en ninguno de sus nudos. La ramificación de los nudos es una característica indeseable para este tipo de producción vegetal. Habría que analizar luego si esto afecta de algún modo la siguiente etapa de producción, en donde las plántulas pasan a una fase de micro propagación en masetas *ex vitro*.

El contenido de Clorofila guarda una estrecha relación con la concentración de nitrógeno en planta y por ende, con la asimilación del mismo. Una plántula con mayor concentración de clorofila es factible que realice mejor fotosíntesis una vez a campo y obtenga una mejor performance productiva. Steve DenBaars (2008) abogaba que la clorofila tiene dos picos de absorción, uno en aproximación a los 450 nm (región de la luz azul) y otro cerca de los 660nm (región de la luz roja). Esto indicaría que si se utilizasen fuentes de luz que emitiesen longitudes de onda cercanas a estos picos de absorción, la asimilación de clorofila se vería favorecida. Esto se ve reflejado en los resultados obtenidos ya que, el mejor desempeño se obtuvo con los dos dispositivos LEDs de los tratamientos 1 y 2. Cuando se compara el tratamiento 2 con el control, se encuentra un contenido de clorofila 47,65 % mayor en promedio. Por otro lado, cuando se compara el tratamiento 1 con el control también se encuentra, en promedio, una diferencia a favor del primero del 19,4 %. Esto demuestra que las plántulas de papa responden positivamente a la luz proveniente de los dispositivos LEDs para este parámetro.

El último factor a analizar era el consumo eléctrico de los distintos tratamientos. Varios autores, entre los que se pueden mencionar, Bourget (2008), Morrow (2008), Jao y Fang (2004), remarcan que una de las características más destacadas de los dispositivos LEDs es su gran capacidad de transformar de modo eficiente la energía eléctrica en lumínica. Por consiguiente, esto llevó a pensar que la utilización de luces LEDs en los ensayos sería el primer paso a tomar en pos de buscar nuevas fuentes de luz que mejoren la eficiencia energética total del proceso durante el ciclo *in vitro* de las plántulas de papa. Previamente se pudo calcular que las dos placas con 54 dispositivos LEDs cada una presentan un consumo promedio de 55 watts por metro cuadrado. A modo de ejemplo, si tuviésemos que replicar el tratamiento testigo, suplantando los tres tubos de luz fluorescentes con tres juegos de placas LEDs, éstas consumirían en el mismo área de 0,72 m², 69 watts y por consiguiente presentarían un consumo de 93 watts por metro cuadrado. Esto representa un consumo eléctrico de los LEDs un 38 % menor en contraposición con los tubos de luz fluorescentes, en igualdad de condiciones. Si

bien en este experimento no se pudo contar con una medición más apropiada como para demostrar porcentajes de ahorro económico, mediante el análisis anterior se puede inferir que representaría un ahorro significativo. Es relevante destacar que, los dispositivos obtenidos en el mercado nacional, no presentan la potencia adecuada necesaria para generar un incremento más significativo en la intensidad y en el ahorro energético en contraste con las luces tradicionales. Además, la liberación de calor por radiación es casi despreciable, lo que facilita aun más el control de temperatura dentro de las cámaras de crecimiento controlado disminuyendo el uso de la electricidad por medio de los refrigeradores para mantener la temperatura.

Conclusiones

En la actualidad, con más frecuencia los países que importan alimentos, exigen mayores controles de los procesos de producción, tanto en los que se refiere a utilización de tecnologías amigables con el ambiente, así como también, que los implementos utilizados en la producción no contengan contaminantes que podrían afectar la salud del ser humano. Este es el caso del mercurio que se encuentra dentro de los tubos de luz fluorescente. Cabe destacar que, estas exigencias hoy no son una limitante para producir, pero en un futuro no muy lejano lo serán, con lo cual empezar a experimentar el uso de tecnologías verdes en la producción de alimentos es una estrategia acertada. Uno de los mayores desafíos encontrados hoy en el campo de la producción de alimentos es, no sólo abastecer a la creciente población mundial, sino también comprometerse cada vez más con los principios de sustentabilidad y eficiencia de los procesos productivos.

Para todos los parámetros en estudio las luces LEDs han demostrado un buen desempeño en el crecimiento *in vitro* de las plántulas de papa. La relación entre los distintos tipos de longitudes de luz utilizadas indica que, con una correcta proporción de Rojo y Azul, los requerimientos de las plántulas son satisfechos. Además, la utilización de luz LED blanca ha probado ser una fuente de luz que satisface las necesidades de las plántulas de papa. De acuerdo a los ensayos realizados se considera viable la sustitución de los tubos de luz fluorescente por la luz LED como fuente de luz para las plántulas de papa cultivadas *in vitro*.

Teniendo en cuenta que la utilización de esta nueva tecnología en este campo recién comienza, todo indicaría a que las mismas presentan un gran potencial en pos de mejorar la eficiencia del proceso productivo, así como también, generar un ahorro económico significativo. Esto se sustenta principalmente en las características de los dispositivos LED, ya que son, altamente eficientes al transformar energía eléctrica en lumínica, de pequeño volumen lo que les confiere una gran flexibilidad al momento de diseñar el sistema de luz, la disipación de calor por radiación es casi nula permitiendo mejorar el control de la temperatura dentro de la cámara de crecimiento.

Por último, los resultados obtenidos nos invitan a seguir investigando esta fuente de luz alternativa en los estadios consiguientes en la obtención de semilla prebásica de *Solanum tuberosum*.

Bibliografía

- ❖ Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Casanoves, F.; Di Rienzo, J.A.; Robledo, C.W. Manual del Usuario. Córdoba, Editorial Brujas, 2008, págs. 82.
- ❖ Bourget, C. M. (2008) An Introduction to Light-emitting Diodes, HortScience, 43 (7): 1944-1946.
- ❖ Bula, R. J.; Morrow, R. C.; Tibbitts, T. W.; Barta, D. J.; Ignatius, R. W.; Martin, T. S. (1991) Light-emitting Diodes as a Radiation Source for Plants, HortScience, 26 (2): 203-205.
- ❖ Castro, I.; Contreras, A. Manejo de plagas y enfermedades en el cultivo de la papa. Valdivia, Imprenta Austral, 2011, págs. 72.
- ❖ Chiru, N.; Nistor, A.; Karacsonyi, D.; Chiru R. N. (2010) Researches Regarding Production of In Vitro Microtubers > 10 mm on Potato, Annals of the Romanian Society for Cell Biology, 2 (15); 73-79.
- ❖ DenBaars, S. (2008) Energy Efficient White LEDs for Sustainable Solid—State Lighting, American Institute of Physics, 1 (1044); 141-148.
- ❖ Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo, C.W. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- ❖ Fang, W.; Wu, C. C.; Chang, M. Y. (2008) LED as light source for baby leaves production in an environmental controlled chamber, Proceedings of the 4th International Symposium on Machinery and Mechatronics for Agriculture and Biosystems Engineering (ISMAB)
- ❖ Flota, K. M.; Childers, K. S. (2008) Light as a Growth Regulator: Controlling Plant Biology with Narrow-bandwidth Solid-state Lightening Systems, HortScience 7 (43): 1957-1964.
- ❖ Jao, R. C.; Fang, W. (2003) An adjustable light source for photo phyto related research and young plant production, American Society of Agricultural Engineers, 16 (5): 601-608.
- ❖ Jao, R. C.; Fang, W. (2004 a) Effects on Frequency and Duty Ratio on the Growth of Potato Plantlets *In Vitro* Using Light-emitting Diodes, HortScience, 39 (2): 375-379.
- ❖ Jao, R. C.; Fang, W. (2004 b) Growth of Potato Plantlets *In Vitro* Is Different When Provided Concurrent Versus Alternating Blue and Red Light Photoperiods, HortScience, 39 (2): 380-382.
- ❖ Jao, R. C.; Lai, C. C.; Fang, W.; Chang, S. F. (2005) Effects of Red light on the Growth of *Zantedeschia* plantlets in vitro and Tuber Formation Using Light-emitting Diodes, HortScience, 40 (2): 436-438.

- ❖ Johansen, N.S.; Vänninen, I.; Pinto, D.M.; Nissinen, A.I.; Shipp, L. (2011) In the light of new greenhouse technologies: 2. Direct effects of artificial lighting on arthropods and integrated pestmanagement in greenhouse crops *Annals of Applied Biology*, 159 (1); 1-27.
- ❖ Lynn, S. (2012) LEDs Lower Costs, Boost Crops Inside Greenhouses, *Photonics Spectra*, 52 (1): 50-53.
- ❖ Massa, G. D.; Kim, H.; Wheeler, R. M.; Mitchell, C. A. (2008) Plant Productivity in Response to LED Lightening, *HortScience*, 43 (7): 1951-1956.
- ❖ Morrow, R. C. (2008) LED Lightening in Horticulture, *HortScience*, 43 (7): 1947-1950.
- ❖ Mosciaro, M. (2004) Caracterización de la Producción y Comercialización de Papa en Argentina. Balcarce, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Instituto de Economía y Sociología, 2009, págs. 4-5 Murashige[†], T.; Skoog, F. (1962) A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures, *Physiologia Plantarum* 3(15): 473-497.
- ❖ Penna, J. A., Lema, D., Rodríguez, E. M. M. Innovación tecnológica y sustitución de importaciones: la producción de semilla de papa en Argentina. Documento de Trabajo N°11. Buenos Aires, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Instituto de Economía y Sociología, 2000, pág. 5.
- ❖ Pop, L.; Cachita, D. (2011) Contribution to *Solanum tuberosum* L. Tubergensis, Vitrocultivated Under Ultrabright Color L.E.D., *Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie*, 18 (2): 124-127.
- ❖ Radovet-Salinschi, D.; Cachita-Cosma D. (2012) In Vitro Conservation of Some Potato Genotypes to Improve the Ecoeconomic Impact of Plant Biotechnonlogy, *Studia Universitatis “Vasile Goldis”, Seria Stiintele Vietii*, 4 (22): 511-518.
- ❖ Vidican, T. L.; Cachita-Cosma D. (2010) Determination of Assimilation Pigment Content in Cladodes of *Opuntia Fragilis* Var. *Fragilis* Exposed to Light of Different Colors Emited by LEDs, *Studia Universitatis “Vasile Goldis”, Seria Stiintele Vietii*, 2 (20): 49-54.
- ❖ www.orbitec.com/store/led_lighting.html. Diciembre 2012.

Anexos

En esta sección se mostrara las distintas tablas y figuras que validan los supuestos del ANOVA.

Anexo 1: Estadística descriptiva

Para cada variable en estudio se detallan, en las tablas, las repeticiones, la media, el desvío estándar, coeficiente de variabilidad, el mínimo y el máximo, por tratamiento.

Tabla 6. Medidas resumen de la variable peso húmedo (gramos plántula⁻¹).

Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máx
Control	Peso H°	4	0.18	0.01	5.71	0.17	0.19
Tratamiento 1	Peso H°	4	0.23	0.03	13.75	0.19	0.26
Tratamiento 2	Peso H°	4	0.20	0.02	10.18	0.18	0.23

Tabla 7. Medidas Resumen de la variable peso seco (gramos plántula⁻¹)

Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máx
Control	Peso Seco	4	0.01	2.0E-03	24.40	0.01	0.01
Tratamiento 1	Peso Seco	4	0.01	1.4E-03	13.83	0.01	0.01
Tratamiento 2	Peso Seco	4	0.01	4.7E-04	4.16	0.01	0.01

Tabla 8. Medidas resumen de la variable número de hojas (hojas plántula⁻¹).

Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máx
Control	N° Hojas	4	7.00	0.00	0.00	7.00	7.00
Tratamiento 1	N° Hojas	4	6.00	0.82	13.61	5.00	7.00
Tratamiento 2	N° Hojas	4	6.75	0.50	7.41	6.00	7.00

Tabla 9. Medidas resumen de la variable longitud del tallo (cm plántula⁻¹).

Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máx
Control	Long. Tallo	4	8.35	0.92	11.03	7.23	9.33
Tratamiento 1	Long. Tallo	4	8.97	0.73	8.18	8.11	9.63
Tratamiento 2	Long. Tallo	4	6.79	0.39	5.71	6.36	7.30

Tabla 10. Medidas resumen de la variable contenido de clorofila (unidades SPAD).

Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máx
Control	Cont. Clorofila	4	37.66	4.67	12.40	30.93	41.56
Tratamiento 1	Cont. Clorofila	4	44.97	3.93	8.74	39.16	47.53
Tratamiento 2	Cont. Clorofila	4	54.13	1.88	3.47	52.39	56.20

Anexo 2: Análisis de homocedasticidad

Para cada variable, mediante la prueba de Levene, se calcula el p-value para ver si se cumple con el principio de homocedasticidad.

Tabla 11. Prueba de Levene de la variable peso húmedo (gramos plántula⁻¹).

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS Peso H°	12	0,37	0,22	71,51

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	6,3E-04	2	3,1E-04	2,59	0,1294
Tratamiento	6,3E-04	2	3,1E-04	2,59	0,1294
Error	1,1E-03	9	1,2E-04		
Total	1,7E-03	11			

Tabla 12. Prueba de Levene de la variable peso seco (gramos plántula⁻¹).

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS Peso Seco	12	0.24	0.08	93.89

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2.1E-06	2	1.0E-06	1.45	0.2846
Tratamiento	2.1E-06	2	1.0E-06	1.45	0.2846
Error	6.5E-06	9	7.2E-07		
Total	8.6E-06	11			

Tabla 13. Prueba de Levene de la variable número de hojas (hojas plántula⁻¹).

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS N° Hojas	12	0,09	0,00	73,66

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,04	2	0,02	0,44	0,6552
Tratamiento	0,04	2	0,02	0,44	0,6552
Error	0,46	9	0,05		
Total	0,50	11			

Tabla 14. Prueba de Levene de la variable longitud del tallo (cm plántula⁻¹).

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS Long. Tallo	12	0,39	0,25	54,81

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,48	2	0,24	2,85	0,1103
Tratamiento	0,48	2	0,24	2,85	0,1103
Error	0,76	9	0,08		
Total	1,24	11			

Tabla 15. Prueba de Levene de la variable contenido de clorofila (unidades SPAD).

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RABS [] Clorofila	12	0,17	0,00	73,29

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	6,84	2	3,42	0,93	0,4301
Tratamiento	6,84	2	3,42	0,93	0,4301
Error	33,16	9	3,68		
Total	40,00	11			

Anexo 2: Análisis de homocedasticidad (continuación)

Para cada variable se realizan los distintos gráficos de dispersión de residuo versus predicho con la finalidad de corroborar visualmente el principio de homocedasticidad.

Figura 9. Residuos vs predichos de la variable peso húmedo (gramos plántula⁻¹).

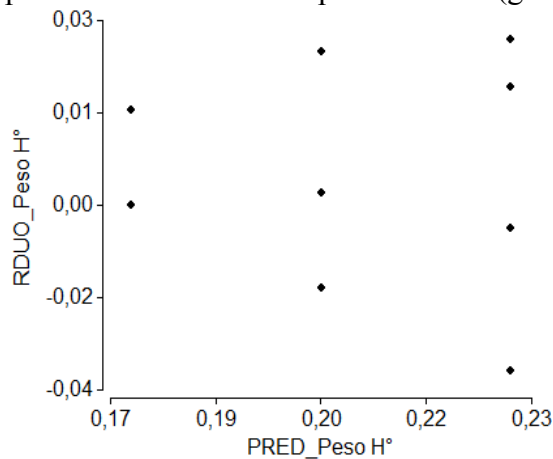


Figura 10. Residuos vs predichos de la variable peso seco (gramos plántula⁻¹).

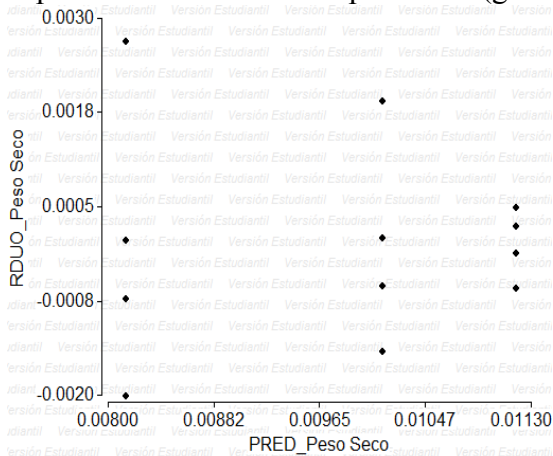


Figura 11. Residuos vs predichos de la variable número de hojas (hojas plántula⁻¹).

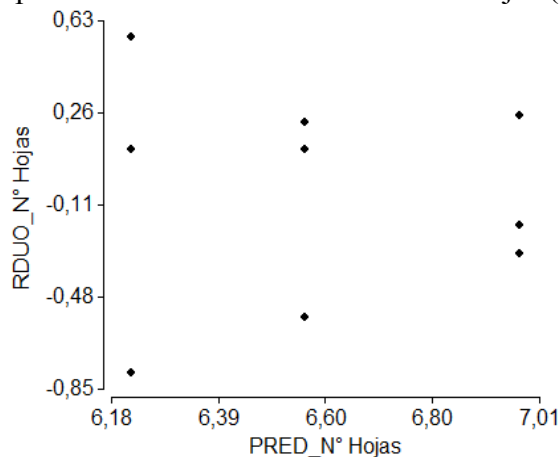


Figura 12. Residuos vs predichos de la variable longitud del tallo (cm plántula⁻¹).

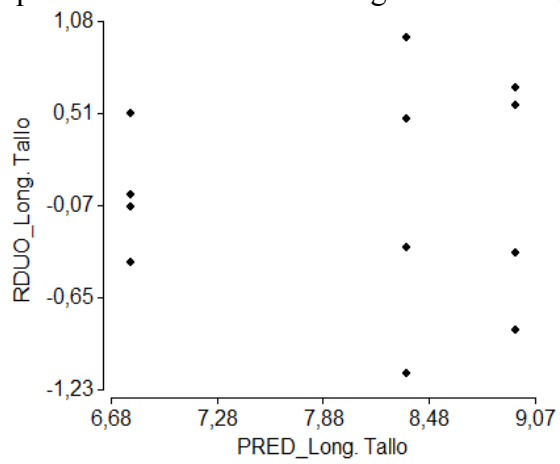
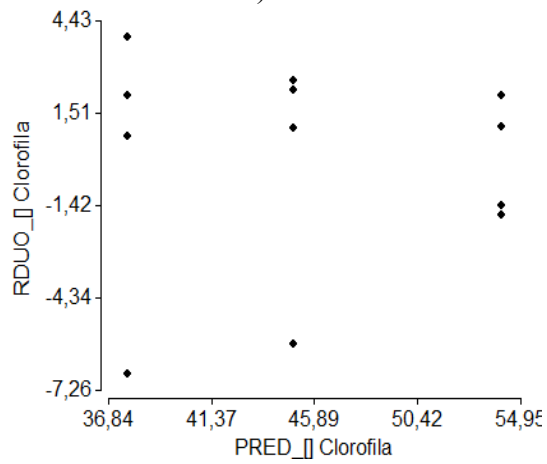


Figura 13. Residuos vs predichos de la variable contenido de clorofila (unidades SPAD).



Anexo 3: Análisis de Normalidad

Para cada variable, mediante la prueba de Shapiro - Wilks, se calcula el p-value para ver si se cumple con el principio de normalidad. Además se realiza el gráfico de Q - Q Plot en donde se puede corroborar visualmente la distribución normal.

Tabla 16. Prueba de Shapiro - Wilks (modificado) para todas las variables bajo estudio.

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO_Peso H°	12	0.000	0.020	0.928	0.5206
RDUO_Peso Seco	12	0.000	0.001	0.941	0.6590
RDUO_N° Hojas	12	0.000	0.500	0.873	0.1294
RDUO_Long. Tallo	12	0.000	0.647	0.937	0.6140
RDUO Cont. Clorofila	12	0.000	3.335	0.841	0.0443

Figura 14. Q-Q plot de la variable peso húmedo (gramos plántula⁻¹).

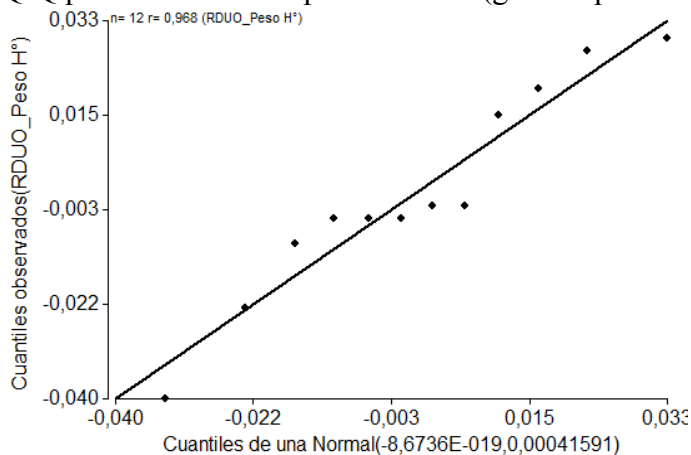


Figura 15. Q-Q plot de la variable peso seco (gramos plántula⁻¹).

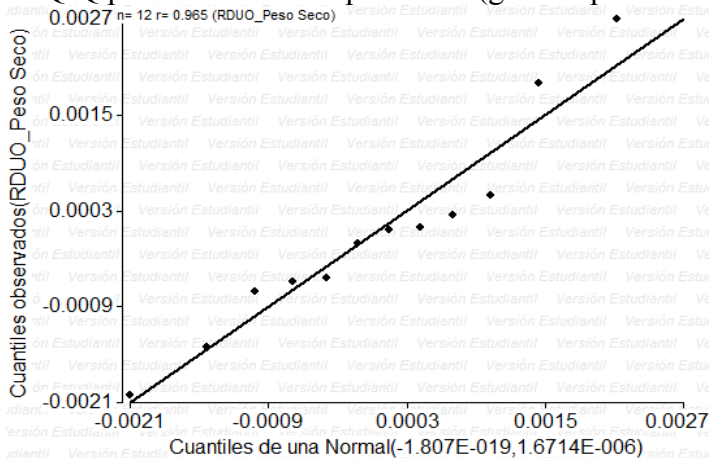


Figura 16. Q-Q plot de la variable número de hojas (hojas plántula⁻¹).

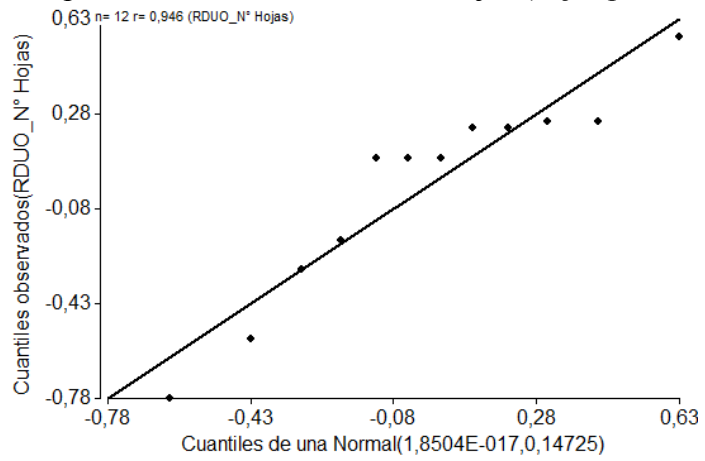


Figura 17. Q-Q plot de la variable longitud del tallo (cm plántula⁻¹).

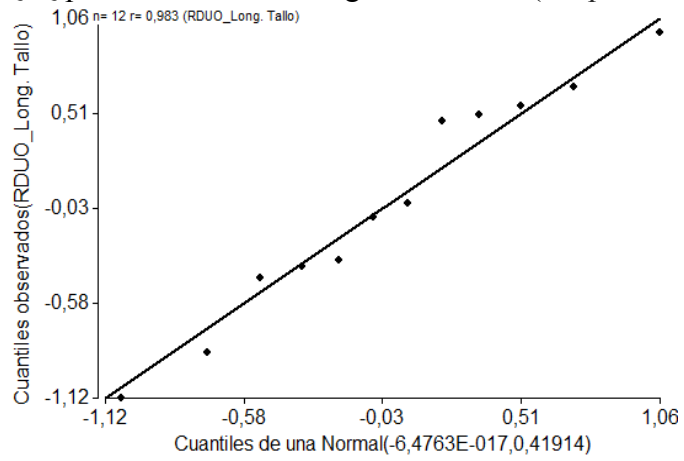
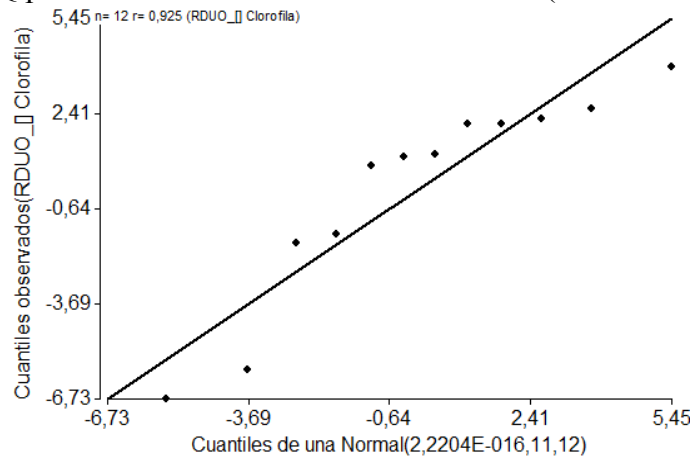


Figura 18. Q-Q plot de la variable contenido de clorofila (unidades SPAD).



Anexo 4: Comparación de las variables respuesta entre tratamientos

Para cada variable se realiza el análisis de la varianza calculándose el p-value que indicara si al menos uno de los promedios de los distintos tratamientos difiere con el del otro. Además, se muestran los resultados del test de Tukey en donde se obtiene la diferencia mínima significativa y el p-value que, indicara si hay o no, diferencias significativas entre los tratamientos, asignándose automáticamente las letras de significancia correspondiente.

Tabla 17. Análisis de la Varianza (ANOVA) y Test de Tukey de la variable peso húmedo (gramos plántula⁻¹).

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso H ^o	12	0,57	0,47	11,13

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	2	3,0E-03	5,95	0,0226
Tratamiento	0,01	2	3,0E-03	5,95	0,0226
Error	4,6E-03	9	5,1E-04		
Total	0,01	11			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,04451

Error: 0,0005 gl: 9

Tratamiento	Medias	n	E.E.
-------------	--------	---	------

Control	0,18	4	0,01 A
---------	------	---	--------

LEDs B+R	0,20	4	0,01 A B
----------	------	---	----------

LEDs R+A	0,23	4	0,01 B
----------	------	---	--------

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Tabla 18. Análisis de la Varianza (ANOVA) y Test de Tukey de la variable peso seco (gramos plántula⁻¹).

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso Seco	12	0.5099	0.4009	14.5534

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1.9E-05	2	9.6E-06	4.6810	0.0404
Tratamiento	1.9E-05	2	9.6E-06	4.6810	0.0404
Error	1.8E-05	9	2.0E-06		
Total	3.8E-05	11			

Test:Tukey| Alfa=0.05 DMS=0.00282

Error: 0.0000 gl: 9

Tratamiento	Medias	n	E.E.
-------------	--------	---	------

Control	0.0081	4	0.0007 A
---------	--------	---	----------

Tratamiento 1	0.0101	4	0.0007 A B
---------------	--------	---	------------

Tratamiento 2	0.0112	4	0.0007 B
---------------	--------	---	----------

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Tabla 19. Análisis de la Varianza (ANOVA) y Test de Tukey de la variable número de hojas (hojas plántula⁻¹).

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Nº Hojas	12	0,41	0,28	6,44

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,14	2	0,57	3,16	0,0914
Tratamiento	1,14	2	0,57	3,16	0,0914
Error	1,62	9	0,18		
Total	2,76	11			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,83754

Error: 0,1800 gl: 9

Tratamiento	Medias	n	E.E.
LEDs R+A	6,22	4	0,21 A
LEDs B+R	6,56	4	0,21 A
Control	6,97	4	0,21 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($\alpha > 0.05$)

Tabla 20. Análisis de la Varianza (ANOVA) y Test de Tukey de la variable longitud del tallo (cm plántula⁻¹).

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Long. Tallo	12	0,69	0,62	8,91

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	10,06	2	5,03	9,82	0,0055
Tratamiento	10,06	2	5,03	9,82	0,0055
Error	4,61	9	0,51		
Total	14,67	11			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,41304

Error: 0,5123 gl: 9

Tratamiento	Medias	n	E.E.
LEDs B+R	6,79	4	0,36 A
Control	8,35	4	0,36 B
LEDs R+A	8,97	4	0,36 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($\alpha > 0,05$)

Tabla 21. Análisis de la Varianza (ANOVA) y Test de Tukey de la variable contenido de clorofila (unidades SPAD).

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
[] Clorofila	12	0,82	0,78	8,09

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	544,29	2	272,15	20,02	0,0005
Tratamiento	544,29	2	272,15	20,02	0,0005
Error	122,32	9	13,59		
Total	666,62	11			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,27841

Error: 13,5916 gl: 9

Tratamiento	Medias	n	E.E.
Control	37,66	4	1,84 A
LEDs R+A	44,97	4	1,84 B
LEDs B+R	54,13	4	1,84 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($\alpha > 0.05$)

Anexo 5: Valores de p-value para las distintas pruebas analíticas realizadas

Tabla 22. Resumen de las pruebas analíticas de las variables estudiadas.

Variable	Shapiro -Wilks	Levene	ANOVA
	(p-value)		
Peso Húmedo	0,5206	0,129	0,0226
Peso Seco	0,6590	0,2846	0,404
Número de Hojas	0,2496	0,655	0,0914
Longitud del Tallo	0,614	0,11	0,0055
Contenido de Clorofila	0,0443	0,43	0,0005

En esta tabla se pueden visualizar, para cada variable, los distintos p - value para cada prueba estadística realizada.

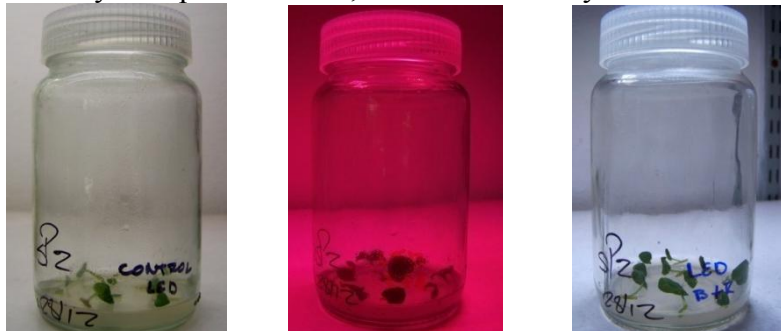
Anexo 6: Imágenes de la primera etapa del ensayo

Figura 19. Cámara de ambiente controlado en donde se llevaron a cabo los ensayos.



Cámara de ambiente controlado en donde se ubican los frascos con plántulas de papa. Las dimensiones del estante son de 60 cm x 70 cm, equivalente a una superficie de 0,42 m². Se puede observar la utilización de una doble capa de sombrite a fin de evitar la contaminación lumínica de otros tipos de fuente de luz adyacentes.

Figura 20. Frascos con yemas y meristemas de papa, de los tratamientos control, 1 y 2 respectivamente, al inicio del ensayo.



Yemas y meristemas de papa en cultivo Murashige al inicio de los ensayos se puede observar el tipo de luz que reciben los frascos correspondientes al control (luz blanca), tratamiento 1 (luz blanca, azul y roja) y tratamiento 2 (luz blanca y roja) respectivamente.

Anexo 7: Imágenes de la etapa final del ensayo luego de 21 días de crecimiento – Toma de Datos

Figura 21. Frascos con plántulas de papa del tratamiento 1 luego de 21 días de cultivo *in vitro*.



Frascos con las plántulas de papa que crecieron in vitro en cultivo Murashige, bajo luz LED blanca, roja y azul, por un lapso de 21 días. Se puede observar cómo se disponen espacialmente las plántulas dentro de los frascos. Además, se ve la estructura de los recipientes y la tapa semipermeable.

Figura 22. Plántulas de papa del tratamiento 1 luego de 21 días de cultivo *in vitro*.



Plántulas de papa cosechadas y separadas en una bandeja con papel absorbente donde se puede observar ramificaciones en varios de sus nudos.

Figura 23. Plántulas de papa del tratamiento 1 luego de 21 días de cultivo *in vitro*.



Plántulas de papa cosechadas y separadas en una bandeja con papel absorbente donde se puede observar el aspecto clorótico del tallo.

Figura 24. Frascos con plántulas de papa del Tratamiento 2 luego de 21 días de cultivo *in vitro*.



Frascos con las plántulas de papa que crecieron in vitro en cultivo Murashige, bajo luz LED blanca y roja, por un lapso de 21 días. Se puede observar cómo se disponen espacialmente las plántulas dentro de los frascos. Además, se ve la estructura de los recipientes y la tapa semipermeable.

Figura 25. Plántulas de papa del tratamiento 2 luego de 21 días de *cultivo in vitro*.



Plántulas de papas cosechadas y separadas en una bandeja con papel absorbente donde se puede observar tanto en las hojas como en los tallos de las plántulas una gran pigmentación correspondiente al alto contenido de clorofila. Además se puede observar un gran desarrollo foliar.

Figura 26. Frascos con plántulas de papa del Tratamiento Control luego de 21 días de *cultivo in vitro*¹.



Frascos con las plántulas de papa que crecieron in vitro en cultivo Murashige, bajo tubos de luz fluorescente (luz blanca), por un lapso de 21 días. Se puede observar cómo se disponen espacialmente las plántulas dentro de los frascos. Además, se ve la estructura de los recipientes y la tapa semipermeable.

¹ Al momento del inicio de la toma de fotos uno de los frascos del tratamiento control ya había sido sacrificado, razón por la cual, en la foto, solamente aparecen tres frascos.

Figura 27. Plántulas de papa del tratamiento Control luego de 21 días de *cultivo in vitro*.



Plántulas de papas cosechadas y separadas en una bandeja con papel absorbente donde se puede observar ramificaciones en varios de sus nudos. Además se visualiza el aspecto clorótico de los tallos.