



**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA**

**“Efectos del uso de radiación de distintas longitudes de onda en el cultivo *in vitro* de
Maqui, *Aristotelia chilensis* (Mol.) STUNTZ”**

MEMORIA DE TÍTULO

Juan Carlos Fuentes Fuentes

**TALCA, CHILE
2019**

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2019

APROBACIÓN:

Profesor Guía



Ing. Agr. Dr. Hermine Vogel
Facultad de ciencias agrarias
Universidad de Talca

Profesor Co-Guía



Ing. Agr. Dr. Valeria Muñoz
Facultad de ciencias agrarias
Universidad de Talca

Fecha de defensa de memoria de título: 10 de mayo de 2019

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a mi familia, por todo el apoyo a lo largo de mi vida y mis estudios, ellos fueron fundamentales para la culminación de esta etapa. Debo agradecer a las grandes amistades forjadas durante este tiempo, tantas que no puedo sintetizar en un solo texto, tantos recuerdos, anécdotas he historias a lo largo de estos años de aprendizaje, cada una atesorada en mi corazón. No puedo dejar de mencionar todo lo aprendido de mis profesores, particularmente de la Profesora Valeria y Hermine, por toda la paciencia y ayuda en la realización de esta investigación. Un especial agradecimiento a mis compañeras de laboratorio Denisse, Vivi y Mariana, por todas las horas de trabajo y todo lo que me han enseñado. Muchas gracias al Huerto Peumayen y su hermosa gente, por ser un segundo hogar dentro de la universidad.

RESUMEN

El Maqui, *Aristotelia chilensis* (Mol.) Stunz., es una especie destacada por sus frutos, considerados un alimento funcional debido a su elevada capacidad antioxidante y variedad de minerales. Por lo anterior este fruto es altamente valorado en el mercado. Sin embargo, las bayas son recolectados desde poblaciones naturales, lo que implica una baja oferta de esta materia prima. Los genotipos seleccionados para futuros cultivos comerciales requieren de una propagación masiva, por ejemplo, por medio de la propagación *in vitro*. El crecimiento de explantes cultivados *in vitro* depende de la luz, específicamente de la longitud de onda (nm) e intensidad ($W/m^2/nm$) de la luz utilizada. Esta investigación planteó como objetivo evaluar el efecto de diferentes intensidades y longitudes de onda como, rojo, azul, blanco, LED y fluorescente sobre el crecimiento de explantes de cuatro clones de maqui cultivados *in vitro*. Evaluando las variables de crecimiento en altura (mm), peso (mg) y número de nudos, durante cuatro semanas de crecimiento. La calidad de la luz fue medida con espectroradiómetro. Los explantes generalmente crecieron mejor bajo la iluminación de focos LED blanco, en comparación con los focos rojo y azul, especialmente cuando predominaba la luz azul. La luz LED blanca solo alcanzó entre 5 y 6% de la intensidad máxima en comparación con la iluminación LED rojo-azul, mientras que la luz fluorescente solo emitía un 28% de la intensidad máxima entregada por la luz LED colores. Los altos niveles de intensidad lumínica causan la saturación del fotosistema, lo que significó un menor crecimiento de los explantes.

Palabras clave: *Aristotelia chilensis*, genotipos seleccionados, propagación *in vitro*, sistemas de iluminación, LED, intensidad lumínica, longitud de onda, explantes, crecimiento.

ABSTRACT

Maqui, *Aristoleia chilensis* (Mol.) Stunz., is an outstanding species because of its fruit, considered to be a functional food due to its high antioxidant capacity and composition of minerals. Therefore, this fruit is highly valued in the market. However, the berries are collected from natural populations, which implies a low supply of this raw material. The genotypes selected to establish commercial crops require mass propagation, for example, through *in vitro* propagation. The growth of *in vitro* explants depends on the light, specifically on the wavelength (nm) and intensity ($W/m^2/nm$). This research aimed to evaluate the effect of different intensities and wavelengths such as red, blue and white, LED and fluorescent, on the growth of explants of four maqui clones. After four weeks explants were evaluated for height (mm), weight (mg) and number of nodes. The quality of the light was measured with a spectroradiometer. Explants generally grew better under illumination of white LED spotlights than under red and blue ones, especially when blue light was predominating. When comparing white LED with fluorescent tubes results were genotype dependent. White LED light only reached between 5 and 6% of the maximum intensity compared with the red-blue LED spots, while fluorescent tubes emitted 28%. High levels of light intensity may cause saturation of the photosystem, with lower growth of the explants.

Keywords: *Aristotelia chilensis*, selected genotypes, *in vitro* propagation, lighting systems, LED, light intensity, wavelength, explants, growth.

Índice

1. INTRODUCCION	9
1.1 Hipótesis	10
1.2 Objetivo general	10
1.3 Objetivos específicos	10
2 REVISIÓN BIBLIOGRAFICA	11
2.1. Contexto del problema	11
2.2. Cultivo <i>in vitro</i>	12
2.3 La fotosíntesis	12
2.4 Iluminación artificial LED	13
3. MATERIALES Y MÉTODOS	14
3.1 Lugar de trabajo	14
3.2 Materiales	14
3.3 Métodos	16
3.4 Diseño experimental y criterios de evaluación	18
3.4.1 Evaluación del efecto diferentes intensidades de luz roja y azul sobre el crecimiento de plantas <i>in vitro</i> de Maqui, en comparación con una luz led blanca.	18
3.4.2 Criterios de evaluación	20
3.5 Evaluación del efecto de 3 luces disponibles en el comercio, una luz LED de colores, luces LED blancas y luces fluorescentes, sobre plantas de distintos clones de maqui.	21
3.5.1 Mediciones en plantas	23
3.5.2 Mediciones irradiancia laboratorio CENATIV	23
4. Resultados	24
4.1 Mediciones de irradiancia $W/m^2/nm$, laboratorio CEAF	24
4.2 Mediciones irradiancia laboratorio CENATIV	25
4.3 Resultados crecimiento explantes	26
5. DISCUSIÓN	29
6. CONCLUSIÓN	31
7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	32

Índice de figuras

Figura 1 Espectroradiómetro (Field Spec 4 Hi- Res).....	15
Figura 2 Espectroradiómetro Apogee instruments	16
Figura 3 Módulo de iluminación LED. CEAF.....	16
Figura 4 Luces LED. CENATIV Utaica	¡Error! Marcador no definido.
Figura 5 Corte de raíces y hojas inferiores.....	17
Figura 6 Medición explante	17
Figura 7 Medición del peso de la planta	17
Figura 8 Introducción en el frasco y planta terminada al interior del frasco.....	17
Figura 9 Disposición de las luces.....	19
Figura 10 Esquema repisas.	19
Figura 11 Módulo de iluminación LED.	19
Figura 12 Control en iluminación blanca	19
Figura 13 Medición con espectroradiómetro	21
Figura 14 Disposición de las luces.....	22
Figura 15 Esquema repisas.	23
Figura 16 Imagen repisa con plantas	23
Figura 17 Imagen con repisa y su cobertura.....	23
Figura 18 Mediciones irradiancia luz LED blanca, LED 10.30.10, LED 10.50.10 y LED 30.20.30. .	24
Figura 19 Mediciones irradiancia luz LED colores, LED blanco y luces fluorescentes.	25

Índice de cuadros

Cuadro 1 Numero de repeticiones por tratamiento. CEAF	19
Cuadro 2 Numero de repeticiones por tratamiento. CENATIV.	21
Cuadro 3 LED rojo/azul con intensidad 10/30/10 y luz LED blanca sobre el crecimiento de explantes de maqui de los clones Luna Nueva y Perla Negra	26
Cuadro 4 LED rojo/azul con intensidad 10/50/10 y luz LED blanca sobre el crecimiento de explantes de maqui de los clones Luna Nueva y Perla Negra	27
Cuadro 5 LED rojo/azul con intensidad 30/20/30 y luz LED blanca sobre el crecimiento de explantes de maqui del clon Luna Nueva	27
Cuadro 6 Efecto de la tres diferentes luces sobre el crecimiento de explantes de maqui de los clones Luna Nueva, Perla Negra, 312 y 622	28

1. INTRODUCCION

El maqui, *Aristotelia chilensis* (Mol.) Stuntz. es endémico de Chile y Argentina. En Chile se distribuye desde la región de Coquimbo hasta la región de Aysén. Está presente en ambas cordilleras y en el valle central, desde el nivel del mar hasta los 2.500 m.s.n.m. (Vogel *et al.*, 2008).

Es una planta dioica. Su morfología es muy variada, creciendo como un arbusto en la zona septentrional, mientras que en la zona meridional se presenta como un árbol (Hoffmann *et al.*, 1992). Es considerada un alimento funcional o súper fruta (Odepa, 2017), ya que, sus frutos tienen una alta actividad antioxidante, también posee diversos minerales, entre los que destaca el calcio. Tiene un alto contenido de fibra dietaria, antocianinas y antioxidantes fenólicos (Lillo *et al.*, 2016).

Las características mencionadas anteriormente han convertido al maqui en una planta muy valorada y con una alta demanda en el mercado. Sin embargo, su oferta está muy limitada, ya que su producción es principalmente por la recolección de plantas desde ambientes silvestres. Investigaciones previas realizadas en la Universidad de Talca, han logrado la selección de fenotipos de interés tanto comercial como agronómico. Una alternativa que permitiría la masificación de estos cultivares es la micropropagación *in vitro*, la que permite la obtención de un gran número de clones a partir de una planta madre en un menor tiempo, que técnicas de propagación convencionales.

La micropropagación *in vitro* es una técnica de multiplicación que consiste en un procedimiento aséptico en el cual se manipulan plantas, órganos, tejidos o células para originar poblaciones de plántulas. Este procedimiento permite obtener plantas idénticas en genotipo y fenotipo a la planta madre de la que se obtuvo el material. El cultivo *in vitro* puede ser optimizado mediante el estudio de la calidad de la luz proporcionada por los sistemas de iluminación y los rangos que permiten un mayor crecimiento. Cada especie vegetal se comporta de forma diferente a la luz que reciben, por lo tanto, se deben hacer los estudios pertinentes para conocer que luces permiten un mayor crecimiento de las plantas (Avercheva *et al.*, 2009).

La recepción de la luz faculta a las plantas para acondicionarse a los cambios de iluminación e influye ampliamente en el control de la fotosíntesis y morfogénesis (Anders *et al.*, 2015). Las plantas tienen la capacidad de responder de variadas formas al color y a la intensidad de la luz, dicho en otros términos, a la irradiancia o la densidad del flujo fotónico. Este punto es de gran importancia para las plantas, ya que, estas absorben determinados rangos de radiación incidente (Nguy-Robertson *et al.*, 2015).

El crecimiento de los vegetales es mediado, además de otros factores, por la calidad de la luz. Cambios de longitud e intensidad en la luz incidente, influyen transformaciones en las plantas que afectan su morfología, fisiología, crecimiento y desarrollo (Johkan *et al.*, 2010, Takahashi, *et al.*, 2012).

En la presente investigación busca determinar qué calidad de luz permite un mayor crecimiento de explantes de maqui *in vitro*.

1.1 Hipótesis

Luces LED permiten optimizar el crecimiento de explantes de maqui cultivados *in vitro*.

1.2 Objetivo general

Determinar qué tipo de luz permite un mayor crecimiento de plantas de maqui propagadas *in vitro*.

1.3 Objetivos específicos

- Determinar qué tipo de luz favorece el crecimiento de explantes de maqui.
- Determinar la influencia de diferentes tipos de luz en cuatro cultivares de maqui.

2 REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

2.1. Contexto del problema

Aristotelia chilensis produce un fruto del tipo baya redondeada de color negro morado cuando está maduro, con un tamaño de 4 a 5 mm de diámetro (Muñoz *et al.*, 2001). La especie se distribuye a lo largo de más de 2100 km en el territorio chileno (Benedetti, 2012).

El pueblo Mapuche ha dado múltiples usos tanto a los frutos, como a hojas y madera del maqui, utilizándolo como alimento, medicina, como material de construcción y también con fines religiosos (mirm de Mösbach, 1992). Algunos de los usos medicinales que los Mapuche otorgaban al maqui son el tratamiento de la diarrea, disentería, inflamación de encías, aftas, inflamación de amígdalas, úlceras del sistema digestivo, enteritis, gastritis, infecciones dérmicas, cicatrizante (Alonso, 2012).

Estudios realizados en Chile han encontrado que el jugo concentrado de maqui tiene mayores cantidades de fenoles y mayor capacidad antioxidante que otros frutos como la mora, arándano, cranberry, frambuesa y frutilla (Alonso, 2012). Otras investigaciones han arrojado importantes propiedades presentes en sus frutos, como cardioprotector (Céspedes *et al.*, 2010), anticancerígeno (Ojeda *et al.*, 2011), actividad neuroprotectora con un potencial uso para el tratamiento de Alzheimer (Fuentealba *et al.*, 2012). Otra investigación evidencia que promueve la disminución de la glucosa basal de la sangre (Jara *et al.*, 2012).

En la actualidad se han realizado estudios que confirman que el maqui tiene efectos beneficiosos para la salud humana, Entre los potenciales efectos destacan la actividad antioxidante, (Lillo *etal.*, 2016), analgésicas, antiinflamatorias, antiespasmódica, cardioprotector (Céspedes *et al.*, 2010), anticancerígeno (Ojeda *et al.*, 2011).

La comercialización del fruto de maqui es realizada como productos congelados, frutos deshidratados, frutos liofilizados, jugo concentrado, puré de maqui y hojas deshidratadas (Benedetti, 2012). Según datos entregados por ODEPA (2016) los destinos de la exportación de maqui entre el año 2009 y 2015 fueron: Asia 40%, América 32%, Europa 21% y Oceanía 5%. El volumen exportado durante el 2017 fue 119,9 t, por un total de 915.000 US dólares. El año 2018 se exportaron 83 t, por un total de 703.600 US dólares, y entre enero y marzo de 2019, 40 toneladas por 368.000 dólares (ODEPA 2019).

En la actualidad la recolección del maqui aún es realizada en forma artesanal desde poblaciones silvestres, los recolectores cortan y/o extraen las ramas para facilitar la cosecha. Este método causa daño y estrés a las plantas, disminuyendo los niveles de producción de las próximas temporadas. Además, se produce un fenómeno de erosión genética, ya que, en general se cosechan los arboles más productivos, siendo cada año más difícil encontrar lugares donde se pueda cosechar maqui en forma silvestre. Se presume que a futuro se podrían generar problemas de abastecimiento a las empresas exportadoras, debido a la disminución de la oferta

de este fruto (Muñoz, 2018).

En la Universidad de Talca se han realizados estudios para la domesticación de *A. chilensis*, con el objetivo de llevar la especie a cultivo, identificar genotipos de alto rendimiento y afinar las técnicas de cultivo (Vogel *et al.*, 2014). La identificación de cultivares aptos para el cultivo de maqui vendrían a satisfacer la creciente demanda que existe a nivel mundial de este fruto. Para cubrir dicha necesidad, los nuevos cultivares pueden ser multiplicados rápidamente mediante micropropagación *in vitro*, a su vez, estas técnicas de cultivo pueden ser optimizadas mediante el conocimiento de la calidad de luz que permite un mayor crecimiento en etapas de multiplicación.

2.2. Cultivo *in vitro*

In vitro significa “dentro de vidrio”, es decir, es el cultivo de semillas, plantas o partes de plantas dentro de frascos de vidrio con un medio de cultivo, en condiciones asépticas y controladas del ambiente que permiten su crecimiento y multiplicación (Simarro *et al.*, 2011). El cultivo *in vitro* tiene sus bases en la totipotencialidad de las células vegetales, la que consiste en que cada célula vegetal viva y con núcleo tiene la capacidad de producir una planta idéntica a la a la planta madre. Una de las principales ventajas del cultivo *in vitro* es que permite la propagación masiva de clones de alta calidad fitosanitaria y genética a partir de una pequeña porción de material vegetal (Daorden, 2012). El medio de cultivo utilizado dentro de los recipientes es una formulación de sales inorgánicas, compuestos orgánicos, reguladores de crecimiento, vitaminas, aminoácidos, agar, agua, azúcar y sustancias vitamínicas (Asghar *et al.*, 2011). El medio más utilizado es el medio basal MS, ya que tiene buenos resultados para un gran número de especies, otro medio muy utilizado para plantas leñosas es el Woody Plant Medium (Iliev *et al.*, 2010). El cultivo *in vitro* se realiza bajo condiciones controladas de pH, humedad relativa, temperatura, CO₂ y luz. La propagación *in vitro* comienza con la introducción de segmentos nodales desde una planta madre, los que son desinfectados y ubicados en el medio de cultivo, luego de un periodo de elongación de lo que se denomina explante, este puede ser subdividido repetidas veces para así obtener el mayor número de clones posible, es importante utilizar nuevas alternativas que permitan la optimización del proceso (Quichimbo *et al.*, 2012).

2.3 La fotosíntesis

Las plantas tienen numerosos fotorreceptores que permiten la intercepción de la luz, los que están involucrados en el crecimiento y la homeostasis. Los fotorreceptores absorben la radiación en

diferentes rangos del espectro. Las clorofilas asimilan las franjas de azul y rojo, mientras que los carotenos toman los colores verde y amarillo (Esteban *et al.*, 2015). Los fitocromos reciben rojo e infrarrojo (Anders *et al.*, 2015). Criptocromos y fototropinas utilizan las franjas de UV-A y el azul (Stroch *et al.*, 2015). La operación coordinada de los pigmentos induce las respuestas fotomorfogénicas de las plantas. La calidad de la luz medida en términos de color e intensidad puede ser una herramienta útil para provocar un aumento en la cantidad y calidad del crecimiento de las plantas cultivadas bajo diferentes luces (Casierra-Posada *et al.*, 2014).

La luz es la fuente de energía que hace posible la fotosíntesis en las plantas, siendo un factor fundamental para su desarrollo y crecimiento (Ding *et al.*, 2010). Las plantas tienen la capacidad de responder tanto a la intensidad de la luz, como al color de esta (Zhang *et al.*, 2012). Longitudes de onda específica pueden generar una respuesta por medio de los fotorreceptores: Fototropinas, criptocromos y fitocromos (Liu, 2012). Según las condiciones ambientales en que las plantas crecen pueden hacer ajustes en su desarrollo y crecimiento (Stephenson *et al.*, 2009). Muchos estudios han evidenciado la importancia de la luz roja y azul para el desarrollo de las plantas, descubriéndose recientemente que la luz verde también es un factor importante de crecimiento (Takano *et al.*, 2009).

La luz es energía que se desplaza como una onda, La parte visible del espectro electromagnético se encuentra entre los 400 y 700 nm, rango de absorción de radiación fotosintéticamente activa que genera la excitación de los fotosistemas I y II, desencadenando la liberación de electrones desde la clorofila. Esto da inicio a la cadena transportadora de electrones formándose así el ATP, el que será utilizado en el ciclo de Calvin para la fijación de carbono (Casierra-Posada *et al.*, 2015). Los fitocromos poseen picos de absorción en la luz roja (660 nm) y radiación infrarroja (730). La luz violeta, azul y verde corresponde a 400 y 520 nm, actúa sobre el crecimiento vegetativo y la fotosíntesis, mientras que la luz amarilla y naranja (entre 520 y 610) nm, no tiene mucha influencia sobre el crecimiento de la planta. La luz roja entre 610 y 720, ejerce una fuerte influencia en el crecimiento vegetativo, fotosíntesis, floración y germinación (Ramos Gonzalías *et al.*, 2016). La luz cumple un funcionamiento con como fuente de energía para la fotosíntesis y como estímulo para el crecimiento (Momokawa *et al.*, 2011; Higuchi *et al.*, 2012). Cambios de color en la luz irradiada pueden alterar el crecimiento y desarrollo de las plantas (Nguy-Robertson *et al.*, 2015).

2.4 Iluminación artificial LED

Durante las últimas décadas la tecnología LED ha tomado mucha importancia en los sistemas de iluminación artificial para el crecimiento de plantas. Los LED poseen varias ventajas sobre la iluminación convencional. Por un lado, su consumo energético es mucho más bajo que

cualquier otra fuente de luz artificial, y producen una muy baja radiación de calor, por lo que es posible ubicarlas directamente sobre las plantas, por otro lado, son elementos de estado sólido, sin partes móviles, lo que les da una mayor durabilidad (Gupta *et al.*, 2013). El ángulo de emisión de las luces LED es menor a 180 grados, es decir, la luz generada es proyectada directamente sobre las plantas, al contrario de otros sistemas de iluminación que emiten la luz en todas direcciones, lo que hace necesario el uso de superficies reflectantes (Macías *et al.*, 2012).

Una de las funciones más importantes de la Iluminación LED es que pueden emitir una longitud de onda específica para promover el crecimiento de las plantas. También pueden ser controlados con sistemas de control digital, pudiendo variar la intensidad y la composición espectral según la etapa de desarrollo en que se encuentren las plantas (Yeh *et al.*, 2009).

La siguiente investigación informa sobre el uso de distintas longitudes de onda e intensidades lumínica, mediante la cuantificación del crecimiento de explantes de maqui propagados bajo estas condiciones. También se hace un análisis del uso de sistemas de iluminación disponibles en el mercado.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de trabajo

El proyecto fue llevado a cabo en dos lugares diferentes:

En el Laboratorio de cultivo *in vitro* del Centro de Plantas Nativas de Chile (CENATIV), ubicado en el Campus Lircay de la Universidad de Talca, y en el Centro de Estudios Avanzados en Fruticultura (CEAF) ubicado en la comuna de Rosario, Rengo, Región del Libertador Gral. Bernardo O'Higgins.

3.2 Materiales

3.2.1 Material Vegetal: Se utilizaron plantas madres de *Aristotelia chilensis*, clones Luna Nueva, Perla Negra, 622 y 312, de las que se extrajeron segmentos nodales que fueron propagados a través de cultivo *in vitro* para obtener material vegetal suficiente para los ensayos establecidos.

3.2.2 Material para preparación de medios

- Material de vidrio diverso (probetas, micropipetas, matraces erlenmeyer, frascos de cultivo, entre otros)
- Soluciones madres del medio
- Balanza analítica

- Balanza digital
- Agitador magnético
- Espátulas
- Horno microondas, para calentamiento rápido de los medios y agar
- pH-metro
- Autoclave
- Bomba peristáltica

3.2.3 Material para desinfección e introducción de explantes

- Cámara de flujo laminar
- Mechero para flameado
- Frascos de vidrio con medio de cultivo
- Material para cerrado de frascos (papel de aluminio, película de polipropileno, tapones metálicos, entre otros.)

3.2.4 Instrumentos

- Espectroradiómetro (Field Spec 4 Hi- Res)
- Espectroradiómetro Apogee instruments

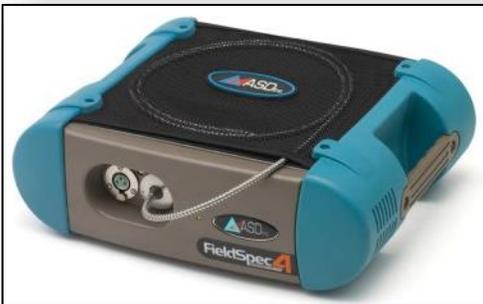


Figura 1. Espectroradiómetro (Field Spec 4 Hi- Res).



Figura 2. Espectroradiometro Apogee instruments.



Figura 3. Módulo de iluminación LED. CEAFF



Figura 4. Luces LED, CENATIV UTalca.

3.3 Métodos

3.3.1 Preparación de medio de cultivo

Para la preparación del medio de cultivo se utilizó el protocolo desarrollado específicamente para maqui. Se llenó de agua destilada un matraz de aforo hasta la mitad de su capacidad. Luego se adicionaron el azúcar y las soluciones para medio de multiplicación (MM) o medio de mantención (MT), según correspondía. Se aforó con agua destilada y se ajustó el pH en 5,7. Se vertió la solución en un vaso precipitado, se agregó el agar y se calentó en el microondas durante 20 minutos para disolverlo. El medio se dispensó en los frascos de cultivo con la ayuda de una bomba peristáltica y posteriormente fue calentado en autoclave para su esterilización.

3.3.2 Individualización de plantas

Al interior de una cámara de flujo laminar se trabajó con las plantas ya establecidas *in vitro*.

Las plántulas fueron individualizadas en frascos de 100 ml con medio de cultivo de mantención. El procedimiento consistió en cortar las raíces, luego se hicieron mediciones de longitud, masa y número de entrenudos, siempre dentro de la cámara de flujo laminar. Las figuras 5 a 10 muestran la secuencia del proceso de individualización de los explantes.



Figura 5. Corte de raíces y hojas inferiores.

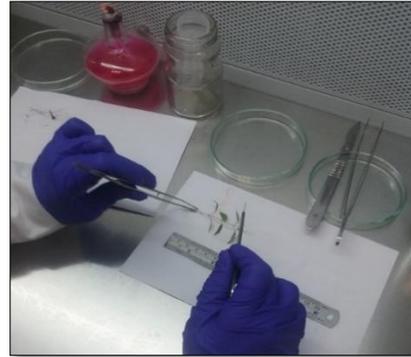


Figura 6. Medición explante



Figura 7. Medición del peso de la planta.



Figura 8. Introducción en el frasco y planta terminada al interior del frasco.

3.4 Diseño experimental y criterios de evaluación

3.4.1 Evaluación del efecto diferentes intensidades de luz roja y azul sobre el crecimiento de plantas *in vitro* de Maqui, en comparación con una luz led blanca.

Se introdujeron explantes de maqui *in vitro* de los clones Luna Nueva y Perla Negra en frascos de 100 ml con 40 ml de medio de cultivo MT, en el laboratorio de la UTalca. Luego se trasladaron al laboratorio de CEAF donde se mantuvieron por 28 días a 21°C con un fotoperiodo 16h/8h luz/oscuridad. Las distintas intensidades de luz evaluadas fueron comparadas con la luz blanca. El módulo de iluminación LED era controlado mediante un software informático regulador de la intensidad de la luz entregada, la cual tenía picos de irradiancia en la luz azul con 450 nm y en la luz roja 660 nm. El software de la marca Philips Dynalite permitía el control de la intensidad de las luces, mediante 3 dimmer digitales (dos para la luz roja y uno para la luz azul), como porcentaje de la irradiancia máxima para cada color. Para determinar en términos reales cuál era la irradiancia entregada por el sistema, se hicieron mediciones con espectroradiómetro, el que cuantifica la irradiancia en unidades de $W/m^2/nm$. La unidad experimental que se utilizó fue un explante por frasco, el número de tratamiento y repeticiones por cada clon se detalla en el cuadro 1. La distribución de los explantes en las repisas es completamente al azar. En las figuras 11 a 14 se detalla la distribución de las luces y las repisas utilizadas.

Cuadro 1. Numero de repeticiones por tratamiento. CEAF

Tratamiento	Clon	Luz	N° explantes
10.30.10	Luna nueva	Rojo/azul	18
		Blanca	18
	Perla negra	Rojo/azul	18
		Blanca	18
10.50.10	Luna nueva	Rojo/azul	18
		Blanca	18
	Perla negra	Rojo/azul	18
		Blanca	18
30.20.30	Luna nueva	Rojo/azul	18
		Blanca	18

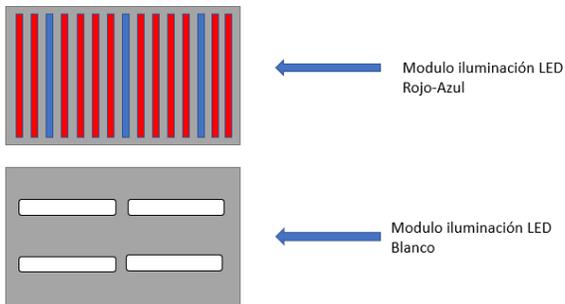


Figura 9. Disposición de las luces.

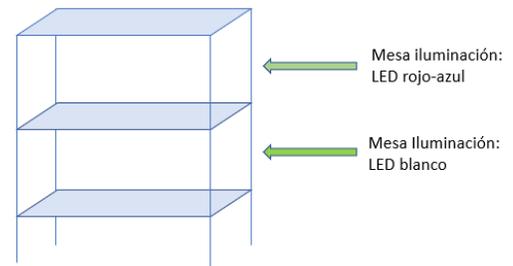


Figura 10. Esquema repisas.



Figura 11. Módulo de iluminación LED



Figura 12. Iluminación LED blanco.

3.4.1.1 Ensayo 1. Comparación de la luz LED con intensidad 10/30/10 y luz LED blanca

En este ensayo se comparó el crecimiento de explantes de dos clones diferentes con las luces LED rojo/azul y Luz LED blanca. Para el caso de la luz LED rojo/azul se decidió comenzar con una mayor intensidad de la luz azul. Por lo tanto, la configuración entregada por el sistema fue de 10% rojo, 30% azul y 10% rojo. En la luz LED rojo/azul se usaron 18 plantas del clon 219 y 18 plantas del clon 617, en la luz LED blanca se usaron 18 plantas del clon 219 y 18 plantas del clon 617.

3.4.1.2 Ensayo 2. Comparación de la luz LED con intensidad 10/50/10 y luz LED blanca

En este ensayo se evaluó un aumento de la luz azul, manteniendo la intensidad de la luz roja, con respecto al ensayo 1. La configuración entregada por el sistema fue de 10% rojo, 50% azul, 10% rojo. En la luz LED se usaron 18 plantas del clon 219 y 18 plantas del clon 617, en la luz blanca se usaron 18 plantas del clon 219 y 18 plantas del clon 617.

3.4.1.3 Ensayo 3. Comparación de la luz LED con intensidad 30/20/30 y luz LED blanca

En este ensayo se evaluó un aumento de la intensidad de la luz roja, disminuyendo la intensidad de la luz azul, con respecto al ensayo 1. La configuración entregada por el sistema fue de 30% luz roja, 20% luz azul y 30% luz roja. En la luz LED se usaron 25 plantas del clon 219 y en la luz blanca 25 plantas del clon 219.

3.4.2 Criterios de evaluación

a) Evaluaciones de las plantas

Los ensayos fueron realizados en tres meses consecutivos (cada mes un ensayo). Luego de un mes de crecimiento bajo las diferentes intensidades de luz se realizaron las mediciones de las plantas, tanto su longitud (cm), número de entrenudos y peso fresco (mg). Posteriormente, fueron secadas en una estufa a 60 °C por 5 días y se registró el peso seco (mg).

b) Mediciones de irradiancia $W/m^2/nm$, laboratorio CEAF

Con un espectroradiómetro se registró la intensidad $W/m^2/nm$ y la longitud de onda (nm) de tres distintas intensidades de luz LED rojo/azul, las intensidades se configuraron con el software Philips Dynalite, el que posee tres controladores, uno para la luz azul y dos para la luz roja. Las intensidades quedan expresadas de la siguiente forma: % rojo/ % azul/ % rojo. También se realizó el registro de la intensidad de una luz LED blanco disponible comercialmente. Los valores de irradiancia fueron normalizados según el valor máximo obtenido en las mediciones, el

que corresponde a la luz LED rojo azul 30.20.30. Para las mediciones se tomaron tres puntos de la repisa: izquierda, centro y derecha, de las cuales se tomaron diez firmas espectrales cada una y se calculó el promedio (figura 15).



Figura 13. Medición con espectralradiómetro.

3.5 Evaluación del efecto de 3 luces disponibles en el comercio, una luz LED de colores, luces LED blancas y luces fluorescentes, sobre plantas de distintos clones de maqui.

Se evaluó el crecimiento de explantes de maqui propagados *in vitro* de los clones Luna nueva, Perla negra, 622 y 312 subcultivados individualmente en frascos de 100 ml con 40 ml de medio de cultivo MT, por un periodo de 28 días, a 21°C y con un fotoperiodo 16h/8h luz/oscuridad. Ensayo ubicado en laboratorio de cultivo *in vitro* del centro de plantas nativas UTalca. Se comparó la influencia de 3 tipos de luz: LED de colores, LED blanco y luz fluorescente, dispuestas en 3 repisas superpuestas (figuras 16 a 18). La unidad experimental que se utilizó fue un explante por frasco, el número de tratamiento y repeticiones por cada clon se detalla en el cuadro 2. La distribución de los explantes en las repisas es completamente al azar. En la repisa con luces LED de colores cada módulo LED está conformado por luces de color: rojo, naranja, azul, blanco. La repisa con iluminación LED de color blanco y la repisa con iluminación fluorescente están compuestas por 4 tubos. Todo el sistema fue recubierto con una cortina negra para evitar la contaminación lumínica (figura 19). Previo a ubicar las plantas en las repisas se realizaron mediciones con espectralradiómetro para determinar la configuración espectral e intensidad de cada uno de los sistemas de iluminación.

Cuadro 2. Numero de repeticiones por tratamiento. CENATIV.

Tratamiento	Clon	N° explantes
LED colores	Luna nueva	18
	Perla Negra	18
	312	18
	622	18
LED blanco	Luna nueva	18
	Perla Negra	18
	312	18
	622	18
Fluorescente	Luna nueva	18
	Perla Negra	18
	312	18
	622	18

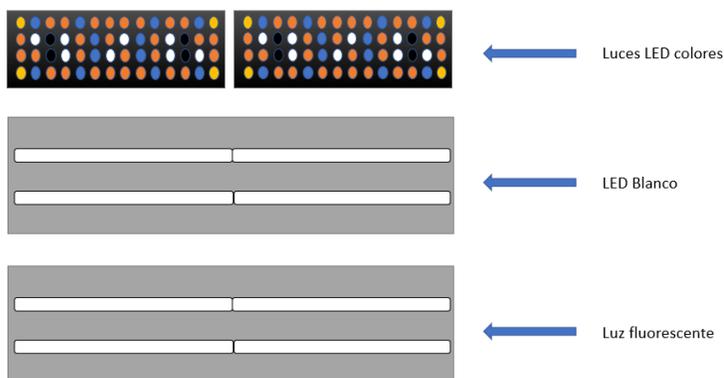


Figura 14. Disposición de las luces.

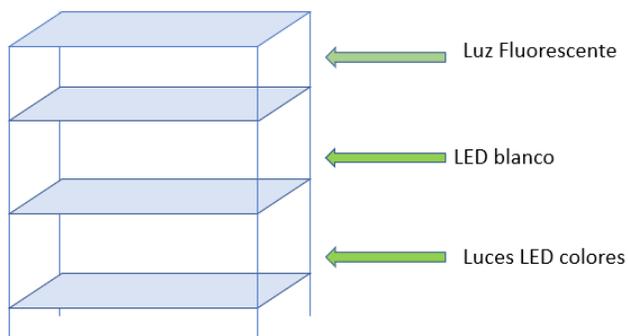


Figura 15. Esquema repisas.



Figura 16. Imagen repisa con plantas



Figura 17. Imagen con repisa y su cobertura.

3.5.1 Mediciones en plantas

Se realizó una medición inicial de altura (mm), peso (mg), número de nudos y luego de 28 días se midió el crecimiento final de los explantes.

3.5.2 Mediciones irradiancia laboratorio CENATIV

Las mediciones de irradiancia fueron realizadas con el espectroradiómetro Apogee instruments. Para esto se realizó un cuadrículado de 10 por 10 cm en cada una de las repisas, dando un total de 40 cuadros por cada repisa, al centro de cada cuadro se realizó una firma espectral con el espectroradiómetro, luego se calculó el promedio de la irradiancia por cada repisa. Los resultados indican la intensidad ($W/m^2/nm$) y longitud de onda (nm) de 3 luces disponibles en el mercado: LED de colores, luz LED blanco e iluminación fluorescente. El espectroradiómetro usado para esta medición entrega los valores ya normalizados por el valor máximo de cada una de las lecturas.

3.5.3 Análisis estadístico resultado de crecimiento de plantas

Para el análisis estadístico se calculó la diferencia de crecimiento de los explantes con los valores finales e iniciales de altura (mm), peso (mg), número de nudos. Se realizó una comparación de medias empleando el test de diferencia significativa mínima (LSD, Least Significant Difference) utilizando como $p \leq 0.05$. El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el paquete informático StatGraphics Plus v.2.1 para Windows.

4. Resultados

4.1 Mediciones de irradiancia $W/m^2/nm$, laboratorio CEAf

La luz blanca presentó dos picos, un pico más angosto que tiene su máxima intensidad en los 450 nm con $0,06 W/m^2/nm$ que corresponde a la luz azul y un pico más ancho que tiene como máximo la intensidad los 583 nm con $0,05 W/m^2/nm$ que corresponde a la zona amarillo naranja (figura 20). En la configuración de luz 10% rojo, 30% azul, 10% rojo, se observa que los máximos están en la zona azul y roja con $0,31$ y $0,33 W/m^2/nm$ respectivamente. En la configuración de luz 10% rojo, 50% azul, 10% rojo, se observa en la luz un pico de $0,49 W/m^2/nm$ y en la luz roja $0,35 W/m^2/nm$. En tanto para la configuración 30% rojo, 20% azul, 30% rojo, se observa que la luz roja tiene una intensidad $1 W/m^2/nm$, la luz azul tiene una intensidad de $0,21 W/m^2/nm$.

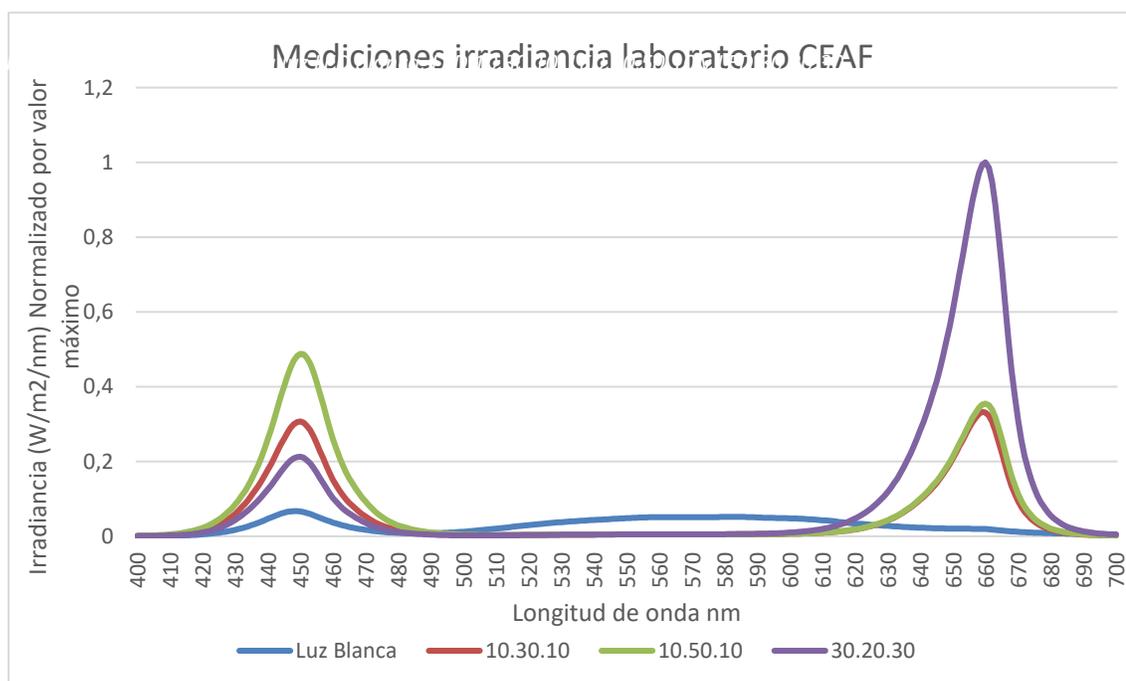


Figura 18. Mediciones irradiancia luz LED blanca, LED 10.30.10, LED 10.50.10 y LED 30.20.30.

Las mediciones de irradiancia evidencian que el módulo de iluminación LED rojo/azul posee dos picos de iluminación, el color azul en los 450 nm y el color rojo en los 660 nm. Se observa en los resultados de la configuración 10% rojo, 30% azul, 10% rojo una discordancia de intensidad teórica y la real, ya que había un mayor porcentaje de luz azul. No obstante, la intensidad roja fue mayor, alcanzando $0,33 W/m^2/nm$, mientras que la luz azul $0,31 W/m^2/nm$. Esto se debe principalmente a que hay cuatro luces rojas por cada luz azul, además esto nos

indica que la distribución de la luz en la repisa no fue uniforme. Posteriormente se aumento un 20% la intensidad teórica de la luz azul, en este caso la luz tuvo una mayor intensidad alcanzando $0,49 \text{ W/m}^2/\text{nm}$ mientras que la luz roja $0,35 \text{ W/m}^2/\text{nm}$. La luz LED 30% rojo, 20% azul, 30% rojo obtuvo la máxima intensidad lumínica de los 3 ensayos, en la región roja $1 \text{ W/m}^2/\text{nm}$, mientras que en la región azul $0,21 \text{ W/m}^2/\text{nm}$. Cabe destacar que la luz LED blanca tiene un nivel de intensidad muy bajo en comparación de la luz LED rojo azul, alcanzando valores de irradiancia de $0,06 \text{ W/m}^2/\text{nm}$ en la zona azul (450 nm) y $0,05 \text{ W/m}^2/\text{nm}$ en la zona amarillo/naranja (588 nm), además, se observa que la luz LED blanco entrega luz en todo el espectro de radiación PAR.

4.2 Mediciones irradiancia laboratorio CENATIV

La luz LED de colores presenta dos picos, con mayor intensidad en la luz azul en los 453 nm con $1 \text{ W/m}^2/\text{nm}$ y con menor intensidad un pico en la zona roja en los 630 nm con $0,6 \text{ W/m}^2/\text{nm}$. La luz LED blanco presenta un visible máximo en los 450 nm con $0,07 \text{ W/m}^2/\text{nm}$. Con la luz fluorescente se observa un pico en la zona azul con 436 nm, otro en la zona verde amarillo con 547 nm y otro en la zona naranja con 613 nm, con intensidades de $0,28$, $0,28$ y $0,25 \text{ W/m}^2/\text{nm}$ respectivamente.

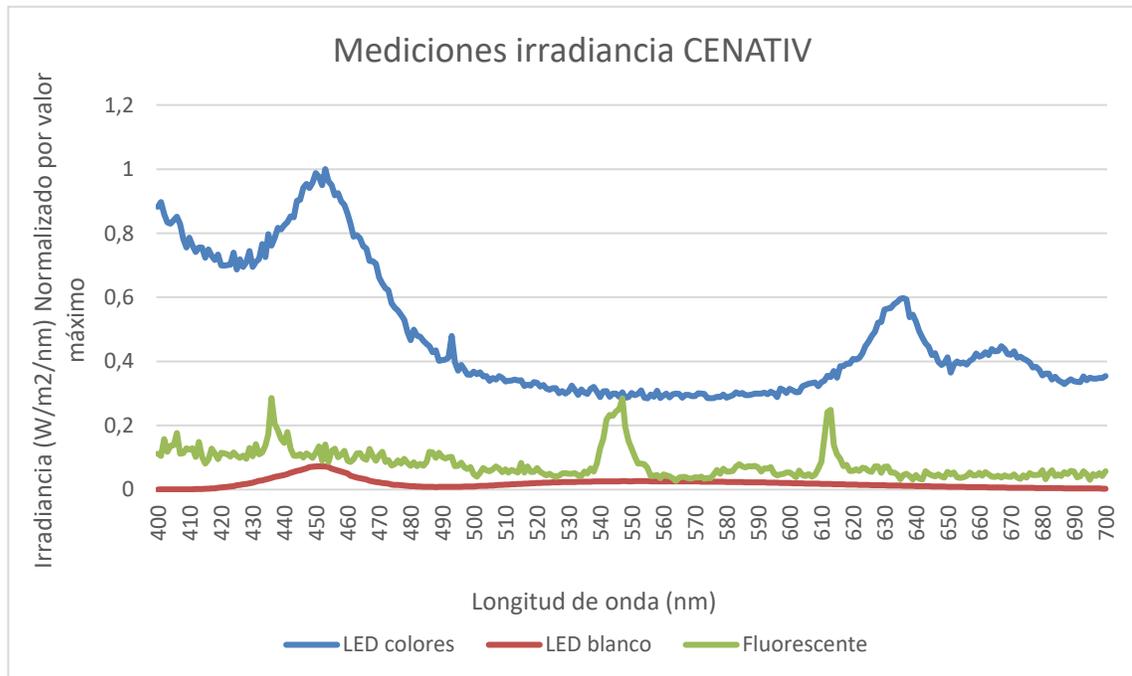


Figura 19. Mediciones irradiancia luz LED colores, LED blanco y luces fluorescentes.

La luz más intensa es la LED de colores, seguido de la luz fluorescente y en último lugar la luz LED blanca, la que alcanza solo un 7% de la intensidad entregada por la luz más potente (figura 21). Además, cabe señalar que los tres sistemas de iluminación entregan luz en toda la radiación PAR. Las curvas de irradiancia del LED colores y LED blanco presentan oscilaciones debido a la desuniformidad de las luces en la repisa. Los resultados anteriores nos indican que hay una gran variabilidad de intensidad y longitud de onda de diferentes sistemas de luz que se encuentran disponibles en el mercado.

4.3 Resultados crecimiento explantes

4.3.1 Ensayo 1. Comparación de la luz LED con intensidad 10/30/10 y luz LED blanca

El clon Luna nueva se observa un mayor crecimiento para la luz LED rojo/azul, sin embargo, la desviación estándar es muy elevada, lo que implica que no hay diferencias significativas entre los tratamientos. En el clon Perla Negra se observa un mayor crecimiento en altura, peso y número de nudos siendo mayor el desarrollo en el tratamiento con luz LED blanca, con diferencias estadísticas para el crecimiento en altura.

Cuadro 3. Efecto de luz LED rojo/azul con intensidad 10/30/10 y luz LED blanca sobre el crecimiento de explantes de maqui de los clones Luna Nueva y Perla Negra

Clon	Luz	Altura (mm)	Peso (mg)	Nº de nudos
Luna Nueva	Rojo/azul	9,9 ± 11,9	27,0 ± 25,0	1,0 ± 0,8
	Blanca	3,1 ± 3,8	21,0 ± 14,0	0,9 ± 1,1
Perla Negra	Rojo/azul	1,7 ± 1,4 b	27,0 ± 17,0	1,5 ± 0,9
	Blanca	8,5 ± 6,7 a	35,0 ± 17,0	1,7 ± 0,9

Valores seguidos por letra diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos de cada clon para la variable indicada, según test LSD ($P \leq 0,05$).

4.3.2 Ensayo 2. Comparación de la luz LED con intensidad 10/50/10 y luz LED blanca

En los explantes del clon Luna Nueva tal como se observa en el cuadro 4 con el aumento de la intensidad de la luz LED rojo/azul se presentó un mayor crecimiento en altura, peso y número de nudos para el tratamiento de la luz LED blanca, solo se presentaron diferencias estadísticamente significativas para el caso de la altura de los explantes. Para el caso del clon Perla Negra hubo un mayor crecimiento de los explantes bajo la luz LED blanca en los tres parámetros medidos, todas con diferencias estadísticamente significativas.

Cuadro 4. Efecto de luz LED rojo/azul con intensidad 10/50/10 y luz LED blanca sobre el crecimiento de explantes de maqui de los clones Luna Nueva y Perla Negra

Clon	Luz	Altura (mm)	Peso (mg)	Nº de nudos
Luna Nueva	Rojo/azul	18,2 ± 12,7 b	77,0 ± 70,0	1,8 ± 1,5
	Blanca	29,1 ± 13,9 a	100,0 ± 55,0	2,6 ± 1,5
Perla Negra	Rojo/azul	5,6 ± 5,1 b	42,0 ± 26,0 b	1,6 ± 0,8 b
	Blanca	17,5 ± 11,3 a	68,0 ± 41,0 a	2,4 ± 0,7 a

Valores seguidos por letra diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos de cada clon para la variable indicada, según test LSD ($P \leq 0,05$).

4.3.3 Ensayo 3. Comparación de la luz LED con intensidad 30/20/30 y luz LED blanca.

Con una alta intensidad de la luz roja y una muy baja intensidad de la luz azul se observa un mayor crecimiento para la luz LED blanca tanto para altura y peso de los explantes, sin embargo, no hay diferencias estadísticas entre los tratamientos.

Cuadro 5. Efecto de luz LED rojo/azul con intensidad 30/20/30 y luz LED blanca sobre el crecimiento de explantes de maqui del clon Luna Nueva

Clon	Luz	Altura (mm)	Peso (mg)	Nº de nudos
Luna Nueva	Rojo/azul	7,7 ± 4,0	41,0 ± 22,0	1,4 ± 1,3
	Blanca	11,9 ± 10,3	54,0 ± 40,0	1,1 ± 1

Valores seguidos por letra diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos de cada clon para la variable indicada, según test LSD ($P \leq 0,05$).

4.3.4 Efecto de tres diferentes fuentes de luz disponibles en el mercado

Cuadro 6. Efecto de la tres diferentes luces sobre el crecimiento de explantes de maqui de los clones Luna Nueva, Perla Negra, 312 y 622

Clon	Luz	Altura (mm)	Peso (mg)	N° nudos
Luna Nueva	LED colores	5,3 ± 1 c	23,0 ± 3,0 b	0,6 ± 0,2 c
	LED blanco	21,6 ± 3,2 a	34,0 ± 3,0 a	2,2 ± 0,2 a
	Luz Fluorescente	13,6 ± 2,5 b	28,0 ± 3,0 ab	1,38 ± 0,2 b
Perla Negra	LED colores	9,0 ± 2,1 b	29,0 ± 6,0	2,6 ± 0,5 b
	LED blanco	20,6 ± 3 a	34,0 ± 9,0	3,6 ± 0,6 b
	Luz Fluorescente	29,6 ± 2,9 a	43,0 ± 3,0	5,4 ± 0,7 a
312	LED colores	7,1 ± 1,2 c	41,0 ± 4,0	1,4 ± 0,3b
	LED blanco	14,3 ± 2,5 b	45,0 ± 5,0	2,2 ± 0,4ab
	Luz Fluorescente	24,2 ± 2,7 a	54,0 ± 5,0	2,35 ± 0,2 a
622	LED colores	3,8 ± 1,6 b	16,0 ± 4,0 b	0,5 ± 0,2 b
	LED blanco	18,8 ± 4,2 a	30,0 ± 5,0 a	2,2 ± 0,3 a
	Luz Fluorescente	11,4 ± 4,1 ab	24,0 ± 6,0ab	1,6 ± 0,4 a

Valores seguidos por letra diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos de cada clon para la variable indicada, según test LSD ($P \leq 0,05$).

El mayor crecimiento del clon Luna Nueva se obtuvo con la luz LED blanco (21 mm), en segundo lugar la luz fluorescente (14 mm) y en último lugar la luz LED de colores (6 mm) (tabla 4). Para el aumento de peso y número de nudos también fue más conveniente el uso de la luz LED blanco (34 mg y 2 nudos). Para el caso del clon Perla Negra, los mejores resultados en altura de los explantes fueron alcanzados por la luz fluorescente (30 mm) y luz LED blanco (21 mm). El mayor número de nudos se obtuvo con la luz fluorescente (5 nudos) y el peso alcanzado por los explantes no mostró diferencias entre tratamientos. Los mejores resultados en altura de los explantes del clon 312 fueron alcanzados por la luz fluorescente (24 mm), seguido por el LED blanco (14 mm) y en último lugar el LED colores (7 mm). En el número de nudos la luz la luz fluorescente y LED blanco (ambos con 2 nudos) es superior que el tratamiento LED colores (1 nudo). El aumento de peso no presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. Para el clon 622, el crecimiento de los explantes de maqui con la luz LED blanco es superior en altura que la luz LED colores (19 v/s 4 mm). En cuanto al número de nudos se aprecia que la luz LED blanco y la luz fluorescente es mejor que el LED colores (2 v/s 1 nudo).

5. DISCUSIÓN

Cuando se comparó el efecto de diferentes intensidades y longitudes de onda roja y azul y una luz LED blanco, se observó que cuando la luz roja era más intensa para el clon Luna Nueva no se presentaron diferencias de crecimiento entre los tratamientos, mientras que para el clon Perla Negra evidenció un mayor crecimiento con la iluminación LED blanco. Con el tratamiento de mayor intensidad de luz azul, se observa un menor crecimiento de los explantes, mientras que ambos clones crecieron significativamente más con la iluminación LED blanco. De los 3 tipos de luces disponibles en el mercado ensayados, se observó que el LED blanco favoreció el crecimiento de explantes de los clones Luna Nueva y 622, mientras que el clon Perla Negra obtuvo mejores resultados con el LED blanco y la luz fluorescente. El clon 312 tuvo un mayor crecimiento bajo la iluminación fluorescente.

Con otras especies hay evidencia de que el rango azul-verde ha disminuido la producción de peso seco de fresas (Casierra-Posada *et al.*, 2012), remolacha (Casierra-Posada *et al.*, 2011) y brócoli (Casierra-Posada *et al.*, 2009). Por el contrario, se encontró que la luz de color verde favorecía la acumulación de materia seca en cala (Casierra-Posada *et al.*, 2012b). Para tomate cherry se encontró que luces de color azul aumentaban el peso seco total de las plantas (Xiaoying *et al.*, 2012). Estudios realizados por Casierra-Posada *et al.*, (2012b) han demostrado una mayor acumulación de peso seco en fresas bajo un filtro fotoselectivo de color rojo en contraste con filtros azul, verde y amarillo. Estudios realizados por Hultberg *et al.* (2014) muestran que la microalga *Chlorella vulgaris* acumuló más biomasa con los colores amarillo rojo y blanco, en comparación con los colores azul, verde y púrpura. Shoji *et al.* (2010) y Kobayashi *et al.* (2013) observaron que la luz azul disminuía la longitud del hipocótilo. McCoshum *et al.* (2011) y Johkan *et al.* (2010) han señalado que la luz verde mejora el crecimiento de plantas adultas y plántulas. En otros casos la luz roja ha indicado incrementar la fotosíntesis de las plantas en el peso seco (Nishimura *et al.*, 2009).

Las múltiples investigaciones realizadas han demostrado que cada especie tiene un comportamiento diferente frente a la calidad de luz en la cual las plantas crecen. Los resultados obtenidos en este ensayo además indican que los clones de maqui tienen diferente comportamiento frente a la luz, esto puede estar influenciado por el lugar de origen que tiene cada uno de los clones, ya que, las condiciones de iluminación del ambiente natural del origen de cada planta causan un condicionamiento celular y molecular, que incluye ajustes funcionales y estructurales de la fotosíntesis (Dong *et al.*, 2014; Dietzel *et al.*, 2015). Para el caso del maqui la luz roja y azul no han promovido su crecimiento, mientras que la iluminación LED blanco e iluminación fluorescente han presentado mejores resultados. Esto podría deberse a que estos sistemas de iluminación emiten luz en toda la zona fotosintéticamente activa, entregando otros colores al fotosistema que permiten un mayor crecimiento de los explantes.

En cuanto a la intensidad de la luz se ha observado que los sistemas de iluminación LED rojo/azul y LED colores tienen niveles de intensidad muy superiores que la iluminación LED blanco e iluminación fluorescente. Esta diferencia de intensidad demostró ser determinante en el crecimiento de los explantes. Las altas intensidades de luz han significado una disminución en el crecimiento, lo que, entre otros factores, podría deberse a que altas intensidades lumínicas pueden generar fotoinhibición, la que puede originar daño e incluso muerte de las células, lo que implica una disminución de la eficiencia fotosintética y crecimiento de los explantes (Park *et al.*, 2011).

6. CONCLUSIÓN

La intensidad lumínica ha demostrado ser un importante factor que considerar en el cultivo *in vitro*. La luz LED rojo/azul no es una buena alternativa para el crecimiento de explantes de maqui, ya que posee una intensidad muy elevada y además no presenta todo el espectro fotosintéticamente activo. La luz LED blanco fue beneficiosa para el crecimiento de los clones Luna Nueva y 622. A su vez con la luz fluorescente se vio favorecido el crecimiento del clon 312, para el caso del clon Perla Negra la luz LED blanco e iluminación fluorescente indujo mejores resultados que la luz LED rojo-azul. Ambos tipos de luz entregan el espectro completo de la radiación PAR, lo que es beneficioso para la fotosíntesis. Es necesario realizar estudios del daño causado por fotooxidación y hacer pruebas intensidades de luz inferiores para verificar si es posible hacer su uso en cultivo *in vitro*, o en etapas posteriores de aclimatación de los explantes. Es importante continuar realizando estudios del efecto de la luz, para así comprender mejor los procesos mediante los cuales las plantas generan respuestas fotomorfogénicas, y así optimizar los procesos de propagación y aclimatación.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Alonso, J. (2012). MAQUI (*Aristolelia chilensis*): UN NUTRACÉUTICO CHILENO DE RELEVANCIA MEDICINAL
2. Anders, K., Essen, L.-O. (2015). The family of phytochromelike photoreceptors: Diverse, complex and multi-colored, but very useful. *Current Opinion in Structural Biology*. 35: 7-16.
3. Asghar, S., Ahmad, T., Hafiz, I. A., & Yaseen, M. (2011). In vitro propagation of orchid (*Dendrobium nobile*) var. Emma white. *African Journal of Biotechnology*, 10(16), 3097-3103.
4. Avercheva, O.V.; Yu.A. Berkovich, A.N. Erokhin, T.V. Zhigalova, S.I. Pogosyan, y S.O. Smolyanina, 2009. "Growth and photosynthesis of Chinese cabbage plants grown under Light-Emitting Diode-based light source". *Russian Journal of Plant Physiology*, 56(1): 14-21.
5. Benedetti, S, 2012. Información tecnológica de productos forestales no madereros del bosque nativo en Chile. Monografía de MAQUI *Aristolelia chilensis* (Mol.) Stuntz
6. Bouterin, D. y Bron, G. 1994. Multiplicación de plantas hortícolas, primera edición. Acibia. Zaragoza. 225 p.
7. Casierra-Posada, F. & Pinto-Correa, J.R. (2011). Crecimiento de plantas de remolacha (*Beta vulgaris* L. var. Crosby Egipcia) bajo coberturas de color. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. 64 (2): 6081-6091.
8. Casierra-Posada, F. & Rojas, J.F. (2009). Efecto de la exposición del semillero a coberturas de colores sobre el desarrollo y productividad del brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Agronomía Colombiana*. 27 (1): 49-55.
9. Casierra-Posada, F., Matallana-Díaz, Y.A., & Zapata-Casierra, E. (2014). Growth of bell pepper plants (*Capsicum annuum*) affected by coloured covers. *Gesunde Pflanzen*. 66 (4): 149-155
10. Casierra-Posada, F., Nieto, P.J., Ulrichs, C. (2012). Crecimiento, producción y calidad de flores en calas (*Zantedeschia aethiopica* (L.) K. Spreng) expuestas a diferente calidad de luz. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*. 15 (1): 97–105
11. Casierra-Posada, F., Peña-Olmos, J.E., Ulrichs, C. (2011). Crecimiento y eficiencia fotoquímica del fotosistema II en plantas de fresa (*Fragaria* sp.) afectadas por la calidad de la luz: implicaciones agronómicas. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*. 14 (2): 43-53.
12. Casierra-Posada, F., Peña-Olmos, J.E., Ulrichs, C. (2012b). Basic growth analysis in strawberry plants (*Fragaria* sp.)
13. Casierra-Posada, F., Peña-Olmos, J.E., Vargas-Martínez, A.F. (2011). Propiedades

- fisicoquímicas de fresas (*Fragaria* sp) cultivadas bajo filtros fotoselectivos. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín. 64 (2): 6221-6228.
14. Casierra-Posada, F., Peña-Olmos, J.E., Zapata-Casierra, E. (2014). Pigment content in strawberry leaves (*Fragaria* sp.) exposed to different light quality. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica. 17 (1): 87-94.
 15. Casierra-Posada, F., Zapata-Casierra, E., Chaparro-Chaparro, D.A. (2014). Growth analysis in chard plants (*Beta vulgaris* L. Cicla, cv. Pencas Blancas) exposed to different light quality. Agronomía Colombiana. 32 (2): 205-212.
 16. Céspedes, C., Alarcon, J., Avila, J., & Nieto, A. (2010). Anti-inflammatory activity of *aristotelia chilensis* Mol. (stunz) (Elaeocarpaceae).
 17. Damascos, M.A, 2009. Contenido mineral de *Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz. Usadas en fitoterapia, *Rev Cubana Plant Med* (En línea) Vol.14, n.4.
 18. Daorden, M. E. (2012). Cultivo in vitro de tejidos vegetales.
 19. Dietzel, L., Gläßer, C., Liebers, M., Hiekel, S., Courtois, F., Czarnecki, O., Schlicke, H., Zubo, Y., Börner, T., Mayer, K., Grimm, B., & Pfannschmidt, T. (2015). Identification of early nuclear target genes of plastidial redox signals that trigger the long-term response of *Arabidopsis* to light quality shifts. *Molecular Plant*. 8 (8):1237-1252
 20. Ding Y.; S. He, J.A. Teixeira da Silva, G. Li, y M. Tanaka, (2010). "Effects of a new light source (cold cathode fluorescent lamps) on the growth of tree peony plantlets in vitro". *Scientia Horticulturae*, 125: 167-169.
 21. Dong. C., Fu, Y., Liu, G., 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*. 200 (3): 219– 230.
 22. Esteban, R., Morán, J.F., Becerril, J.M., García-Plazaola, J.I. (2015). Versatility of carotenoids: An integrated view on diversity, evolution, functional roles and environmental interactions. *Environmental and Experimental Botany*. 119: 63-75.
 23. Fuentealba, J., Dibarrart, A., Saez, F., Fuentes, M., Oyanedel, C., Guzmán, J., . . . Aguayo, L. (2012). Synaptic Silencing and Plasma Membrane. Concepción.
 24. Gonzalías, Y. R., & Lasso, E. R. (2016). Desarrollo de un sistema de iluminación artificial LED para cultivos en interiores-Vertical Farming (VF). *Informador técnico*, 80(2), 111-120.
 25. Gupta, S.D., y B. Jatothu, 2013. "Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) in in vitro plant growth and morphogenesis". *Plant Biotechnology Reports*, 7(3): 211-220.
 26. Higuchi, Y., Sumitomo, K., Oda, A., Shimizu, H., & Hisamatsu, T. (2012). Day light quality affects the night-break response in the short-day plant chrysanthemum, suggesting differential phytochrome-mediated regulation of flowering. *Journal of Plant Physiology*.

169: 1789-1796.

27. Hoffmann, A., Farga, C., Lastra, J. y Veghazi, E. 1992. Plantas Medicinales de uso común en Chile. Ediciones Claudio Gay. Santiago, Chile. 273p.
28. Hultberg, M., Larsson, H., Bergstrand, K.J., Carlsson, A.S. (2014). Impact of light quality on biomass production and fatty acid content in the microalga *Chlorella vulgaris*. 159: 465-467.
29. Iliev, I., Gajdosova, A., Libiakoc, G. and Shri Mohan, J. (2010). Plant Micropropagation in: Plant Cell Culture Edited by Michael R. Davey and Paul Anthony. John Wiley & Sons 2010.
30. Johkan, M., Shoji, K., Goto, F., Hashida, S., Yoshihara, T. (2010). Blue light-emitting diode light irradiation of seedlings improves seedling quality and growth after transplanting in red leaf lettuce. *HortScience*. 45: 1809-1814.
31. Johkan, M.; K. Shoji, F. Goto, S. Hahida, y T. Yoshihara, (2012). "Effect of green light wavelength and intensity on photomorphogenesis and photosynthesis in *Lactuca sativa*". *Environmental and Experimental Botany*, 75: 1281-133.
32. Kobayashi, K.; T. Amore, y M. Lazaro, (2013). "Light-Emitting diodes (LEDs) for Miniature Hydroponic Lettuce". *Optics and Photonics Journal*, 3: 74-77.
33. Lillo, A., Carvajal-Caiconte, F., Nuñez, D., Balboa, N., & ZAMORA, M. A. (2016). Cuantificación espectrofotométrica de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en distintos berries nativos del Cono Sur de América. *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias*, 42(2), 168-174.
34. Liu, W., (2012). "Light Environmental Management for Artificial Protected Horticulture". *Agrotechnology*, 1: 1-4.
35. Martin Ramos, P., Navas Gracia, L. M., Hernández-Navarro, S., Correa-Guimaraes, A., Martin Gil, J., Martin Bravo, E., ... & Duran Altisent, J. M. (2010). Diodos emisores de luz para irradiación de plantas.
36. McCoshum, S., y J.Z. Kiss, (2011). "Green light affects blue-light-based phototropism in hypocotyls of *Arabidopsis thaliana*". *Journal of the Torrey Botanical Society*, 138(4): 409-417.
37. Momokawa, N., Kadono, Y., Kudoh, H. (2011). Effects of light quality on leaf morphogenesis of a heterophyllous amphibious plant, *Rotala hippuris*. *Annals of Botany*. 108: 1299-1306.
38. Muñoz, O., Montes, M., Wilkomirsky t. (2001). Plantas medicinales de uso en Chile. Santiago, Chile, Editorial Universitaria S.A. p.15.
39. Muñoz, R. R. (2018). Perspectiva del Mercado Internacional para el desarrollo de la industria del maqui: Un análisis de las empresas en Chile.
40. Nguy-Robertson, A., Suyker, A., Xiangming X. (2015). Modeling gross primary production

of maize and soybean croplands using light quality, temperature, water stress, and phenology. *Agricultural and Forest Meteorology*. 213: 160-172.

41. Nishimura, T.; K. Ohyama, E. Goto, y N. Inagaki, (2009). "Concentrations of perillaldehyde, limonene, and anthocyanin of Perilla plants as affected by light quality under controlled environments". *Scientia Horticulturae*, 122: 134-137.
42. Ojeda, J., Jara, E., Molina, L., Parada, F., Burgos, R., Hidalgo, M., & Hancke, J. (2011). Effects of *Aristotelia chilensis* berry juice on cyclooxygenase 2 expression, Santiago.
43. Park J, R Craggs & A Shilton. (2011). Recycling algae to improve species control and harvest efficiency from a high rate algal pond. *Water Research* 45: 6637-6649
44. Quichimbo, D., & Del Cisne, G. (2012). *Procesos morfogénicos in vitro de cedro (Cedrela montana Moritz ex Turcz.) inducidos, a partir de semillas, para propagación y conservación de germoplasma* (Bachelor's thesis).
45. Seguí Simarro, J. M. (2011). Biología y biotecnología reproductiva de las plantas. *Colección Académica. Editorial UPV*.
46. Shoji, K.; M. Johkan, F. Goto, S. Hashida, y T. Yoshihara, (2010). "Blue Light-emitting Diode Light Irradiation of Seedlings Improves Seedling Quality and Growth after Transplanting in Red Leaf Lettuce". *Hortscience*, 45(12): 1809-1814.
47. Stephenson, P. G., Fankhauser, C., & Terry, M. J. (2009). PIF3 is a repressor of chloroplast development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(18), 7654-7659.
48. Štroch, M., Materová, Z., Vrábl, D., Karlický, V., Šigut, L., Nezval, J., Špunda, V. (2015). Protective effect of UV-A radiation during acclimation of the photosynthetic apparatus to UV-B treatment. *Plant Physiology and Biochemistry*. 96: 90-96.
49. Takahashi, H., Yamada, H., Yoshida, C., Imamura, T. (2012). Modification of light quality improves the growth and medicinal quality of clonal plantlets derived from the herbal plant *Gentiana*. *Plant Biotechnology*. 29: 315-318.
50. Takano, M., Inagaki, N., Xie, X., Kiyota, S., Baba-Kasai, A., Tanabata, T., & Shinomura, T. (2009). Phytochromes are the sole photoreceptors for perceiving red/far-red light in rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(34), 14705-14710.
51. Vogel, H., Peñailillo, P., Doll, U., Contreras, G., Catenacci, G., & González, B. (2014). Maqui (*Aristotelia chilensis*): Morpho-phenological characterization to design high-yielding cultivation techniques. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 1(4), 123-133.
52. Vogel, H., Razmilic, I., San Martin, J., Doll, U y Gonzalez., (2008). Plantas medicinales chilenas: Experiencia de domesticación y cultivo de Boldo, Matico, Bailahén, Canelo, Peumo y Maqui. Editorial Universidad de Talca. Talca.191 p.
53. Wilhelm de Mösbach, E. (1992). *Botánica indígena de Chile*. Santiago: Andrés Bello.

54. Yeh N y Chung JP. (2009). High-Brightness LEDs – energy efficient lighting sources and their potential in indoor plant cultivation. *Renew Sust Energ Rev.* 13:2175-2180.
55. Zhang T., y K.M. Folta, (2012). "Green light signaling and adaptive response". *Plant Signaling & Behavior*, 7(1): 1-4.