

I INTRODUCCIÓN

La luz juega un importante rol en la vida de las plantas, no solo como fuente de energía, si no también como respuestas adaptativas a su medio ambiente, por medio de proteínas específicas. Por consiguiente el manejo de la luz es un factor importante en toda las actividades diarias y sobre todo en aquellos organismos autótrofos que sintetizan su propio alimento.

Además dentro de la producción agrícola que se lleva acabo tanto en campo como en condiciones protegidas: uno de los elementos que influye de manera directa en los rendimientos y respuestas de las plantas es la luz, principalmente aquella que ejerce una respuesta fisiológica; ya sea para estimular la germinación de semillas, el enraizamiento de esquejes, controlar el fotoperíodo, favorecer la floración, o incluso para la multiplicación de especies vegetales *in vitro*, como es el caso de esta investigación.

Por lo tanto es necesario asemejar lo mejor posible esas condiciones naturales o aquellas que favorecerán el crecimiento y desarrollo de las especies vegetales.

Claro que, en los trabajos de cultivo *in vitro*, donde se utilizan herramientas, más sofisticadas, los costos se encarecen, debido a los implementos que se utilizan son muy caros, el empleo de sustancias como hormonas, gelificantes y equipos de laboratorios, no se encuentran al alcance, para la mayoría de las personas.

En esta investigación, se estudió la respuesta en el desarrollo de seis especies de plantas, cultivadas *in vitro*, principalmente, relacionadas al ámbito ornamental, cuyos nombres corresponden a dalia (*Dahlia spp*), begonia de hoja (*Begonia rex*), copihue (*Lapageria rosea* Ruiz et Pav.), papa morada (*Solanum tuberosum* L.), murta (*Ugni molinae* T.) y helecho arbóreo (*Dicksonia berteriana*). Estas especies en su mayoría son plantas nativas y endémicas.

Luego se plantea, como hipótesis de trabajo si los rangos de longitudes de onda, comprendidos en la luz blanca, azul y roja, tendrían un efecto diferencial sobre el crecimiento y desarrollo de algunas especies cultivadas *in vitro* sin hormonas.

1.1 Objetivo general

Esta investigación tiene por objetivo general, evaluar el efecto de la longitud de onda sobre parámetros de crecimiento de seis especies vegetales cultivadas *in vitro* .

1.1.2 Objetivos específicos

1. Evaluar la respuesta al enraizamiento al exponer las especies vegetales: dalia, papa, begonia, murta y copihue a la luz azul, roja y blanca.
2. Evaluar el efecto de los tratamientos en la germinación de las esporas y el crecimiento de los prótalos en el helecho arbóreo
3. Evaluar el efecto de los tratamientos en el crecimiento aéreo de las especies vegetales: dalia, papa, begonia, murta y copihue.
4. Evaluar la presencia y el desarrollo de microtubérculos en papa y callo en dalias.

II REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Características botánicas y agronómica de las especies en estudio.

2.1.2 *Dahlia spp.*

Las dalias pertenecen a la familia de las compuestas. Sus hojas son compuestas y dentadas, sus tallos son herbáceos y pueden alcanzar desde 0.40 a 2 metros de altura. Sus flores son una inflorescencia en capítulo de colores diversos y tamaño variable. (BIANCHINI y CARRARA, 1975).

SEEMANN (1999), mencionan que las dalias son plantas geófitas perennes, que poseen raíces tuberosas que es el órgano de reserva, señalando además que son plantas originarias de México y de otros países de América central.

Las dalias principalmente se utilizan como plantas ornamentales, en jardinerías, como flor cortada y para arreglos florales (INFOAGRO, 2003), también tienen uso medicinal y en países de Centro América se consume su raíz. (TORRES. s/f), a nivel mundial la producción de sus tubérculos alcanza unas 350 hectáreas en Holanda y 50 hectáreas en Francia (INFOAGRO, 2003).

En relación a las características agronómicas las dalias prefieren los suelos profundos, fértiles y bien mullidos. (SALMERON, 1996). Además LOSERRA (1977), citado por INFOAGRO 2003 menciona que el exceso de fertilización nitrogenada debilita los tallos, desarrolla mucho las hojas y perjudica la conservación de las flores. El fósforo y el potasio dan rigidez al tallo, acentúan el color de la flor y activan la madurez de los tubérculos. El potasio vigoriza las extremidades y reanima la formación de reservas en los tubérculos. Se ha comprobado también que el sulfato de magnesio tiene particular incidencia en la floración.

UPPMAN (1971), citado por SEEMANN (1999), señala que las dalias deben regarse después de plantadas, y no se repite el riego hasta que aparecen los retoños a menos que haya un período seco y cuando las hojas desarrollen superficies de hojas grandes, se aumenta el riego.

2.1.3 *Solanum tuberosum* L.

BUSTAMANTE *et al.*, (1995), menciona que botánicamente la papa pertenece a la amplia familia de las Solanáceas y es nativa de la cordillera andina de Sudamérica. HOOKER (1980), la describe como una planta dicotiledónea herbácea anual, potencialmente perenne debido a su capacidad de reproducción por tubérculos, además sus flores son pentámeras de colores diversos, tienen estilo y estigma simples y ovario bilocular .

Este mismo autor describe a los frutos maduros de forma redonda a oval de 1 a 3 cm de diámetro, de color verde amarillento o castaño rojizo, tienen 2 loculos con 200 a 300 semillas.

La papa a nivel mundial representa uno de los cultivos de mayor importancia, debido a su alto contenido de hidratos de carbono, valor energético y a los múltiples usos a los que se destina, entre ellos, consumo humano, alimentación de ganado y materia prima para diversos productos industriales. La producción mundial para esta especie es aproximadamente de 300 millones de toneladas. China es el principal país productor seguido por, Federación Rusa, Polonia y EE, UU (FUNDACIÓN CHILE, 2000).

En nuestro país ocupa el cuarto lugar de importancia con una producción anual de 930.000 toneladas, produciéndose durante todo el año debido a que se distribuye a través de una amplia zona geográfica, concentrándose principalmente en las regiones IX y X. (FUNDACIÓN CHILE, 2000).

En cuanto a sus requerimientos prefiere de humedad abundante y regular ya que es particularmente sensible a la sequía, vegeta bien donde hay temperaturas templadas y humedad ambiente. (PARSONS, 1982).

Prefiere suelos, de tierras mullidas y aireadas. Es una planta que tolera una fuerte acidez. La temperatura mínima de desarrollo vegetativo se sitúa entre 6 y 8 °C. Temperaturas del orden -2 °C destruye la parte aérea. Por consiguiente la temperatura óptima de crecimiento se cifra en 16 a 18 °C, y la incidencia de temperaturas nocturnas frescas es un factor positivo para la tuberización. (MAROTO, 1989).

2.1.4 *Begonia rex*

Es un híbrido de grandes hojas, que pertenece a la familia Begoniaceae posee una fina red de raíces que se extienden horizontalmente. Flores rosadas y pequeñas poco vistosas, hojas gruesas cubiertas de finos pelos. La semilla de *Begonia rex* es diminuta, se multiplica por segmentos de hoja procurando que la parte a enraizar contenga un nervio consistente y por hojas enteras. (INFOAGRO, 2003).

SANTA CRUZ y QUEZADA (2001), mencionan que las begonias son plantas ornamentales importantes en el ámbito mundial, por su variedad de hojas asimétricas y flores imperfectas, además es considerada entre las 10 plantas más vendidas en Centroeuropa (INFOAGRO 2002), pueden ser utilizadas como plantas de jardín, plantas de interior, para cestas colgantes y en invernaderos (SANTA CRUZ y QUEZADA, 2001).

Las características agronómicas que requiere esta especie principalmente son sombra ligera para evitar las manchas de sus hojas por efecto del sol directo, prefiere las tierras sueltas y ricas en humus. El riego se debe realizar con agua a temperatura ambiente. (INFOAGRO, 2003).

La calidad de la luz durante la emisión de etileno por los discos de hoja utilizados para la reproducción vegetativa es importante. En estudios realizados para la variedad *Begonia x hiemalis*, se observó que la producción de etileno se puede controlar, reduciéndose así el efecto de envejecimiento, a través de luces blancas o rojas, las cuales inhiben la

formación de los estimuladores de la formación del etileno (RUDNICKI *et al.*, 1993 citado por INFOAGRO, 2003).

Del mismo modo se han estudiado para esta variedad el efecto de la temperatura, nivel de radiación, fotoperíodo y duración de los días y la calidad de la luz en la morfogénesis. (MYSTER, 1999 citado por INFOAGRO, 2003).

2.1.5 *Ugni molinae* T.

La murta, es un arbusto endémico de Chile perteneciente a la familia de las Mirtáceas, crece en forma silvestre y puede medir hasta 2 metros de altura, posee hojas perennes (DONOSO y RAMÍREZ, 1994), sus hojas son ovoides y puntiagudas de 1 a 7 cm de largo (LAVÍN y MUÑOZ, 1988), sus flores tienen forma acampanada, con 5 pétalos encorvados hacia el interior y los sépalos doblados hacia fuera. (DONOSO y RAMÍREZ, 1994).

Su fruto es una baya que varía de color blanquecino, rojos, y rosadas, con la característica de llevar 5 pétalos apegados al fruto en el ápice (DONOSO Y RAMÍREZ, 1994).

A nivel nacional esta especie se distribuye entre la VII y X región, (SEGUEL *et al.*, 2000) además por tratarse de una especie endémica, reviste un valor estratégico factible de ser utilizado desde una perspectiva económica (SEGUEL, 2003). Existen datos proporcionados por la empresa Afodech Ltda., la cual evaluó la producción de murta en condiciones naturales en la provincia de Llanquihue arrojando rendimientos cercanos a 1000- 1500Kg/ha. (TACÓN, 2004).

Sus frutos son principalmente utilizados para el consumo en fresco como en la elaboración de mermeladas, jarabes, licores de fabricación casera (TORRES *et al.*, 1999). Pero además se ha encontrado que sus hojas poseen propiedades farmacológicas y cosméticas, para la elaboración de cremas (VEGA, 2003), este mismo autor señala que existe una dura lucha para impedir que este cultivo sea inscrito como planta Australiana, internacionalmente se conoce esta especie como chilena guava.

En cuanto a sus requerimientos, esta especie se adapta a suelos marginales, lo que implica terrenos de baja fertilidad, pero con buen drenaje, con pH del suelo entre 5.6 y 6.0 (SEGUEL y AVENDAÑO, 2001).

Además estos mismos autores mencionan que esta especie presenta una natural adaptación a suelos de baja fertilidad, lo que podría ser una interesante alternativa para suelos degradados.

ALBA (1977), se refiere a esta especie como una planta que soporta climas extremos que van desde la resistencia a las heladas y soportar la sequía propia del sur de nuestro país, sin verse afectado, ni sufrir daño la madurez de sus frutos.

2.1.6 *Lapageria rosea* Ruiz et Pav.

MUÑOZ y MOREIRA (2000), señalan que esta especie fue bautizada Lapageria en honor de Josefina de Beauharnais de la Pagerie, primera esposa de Napoleón Bonaparte, y actualmente considera un género endémico de Chile.

SALAS *et al.*, (2002), describe al copihue, como un arbusto trepador de 3 a 6 metros de alto, pertenece a la familia Philesiaceae de tallo leñoso, duro y flexible, de color café claro, hojas simples, de 4 a 12 cm de largo, coriáceas, ovaladas oblongas y base acorazonada. Sus flores son acampanadas, compuestas por seis tépalos erectos, de entre 7 a 9,5 cm de largo y de 2 a 3 cm de ancho de intenso color rojo, las que también pueden ser rosadas y blancas apareciendo entre Abril y Mayo. El fruto corresponde a una baya lisa, ovoide comestible.

En nuestro país el copihue se concentra principalmente desde el bosque Maulino de la VII región hasta la X región, sin embargo reviste una mayor importancia a nivel de país por tratarse de la flor nacional, además por ser una especie con riesgo de extinción se prohíbe el corte, transporte, tenencia y comercio; esta norma detalla que sólo podrán transportarse, comercializar y tener plantas y flores de copihue provenientes de viveros de plantas registradas por el SAG y de áreas ecológicas que permitan el desarrollo natural y espontáneo de esta especie que cumplan con las normas de manejo que señala el SAG (HENRIQUEZ *et al.*, 2000).

Nuestra flor nacional, a nivel mundial es cultivada principalmente en invernaderos de Europa y principalmente en Australia es una planta muy apreciada. Sus usos son principalmente, como flores de corte, realización de coronas, y planta ornamental de jardines (MUÑOZ 1998).

En cuanto a sus requerimientos agronómicos, prefiere suelos con pH 5 - 6, los cuales deben ser sueltos, aireados, con buen drenaje y con un alto contenido de materia orgánica y buena fertilidad, las plantaciones deben evitar exceso de sol y sobre todo la parte basal de la planta debiera

quedar permanentemente protegida del sol directo para evitar quemaduras de los brotes tiernos (SALAS *et al.*, 2002).

2.1.7 *Dicksonia berteriana*

GUNKEL (1984), describe a esta especie como un helecho de la familia Dicksoniaceae arborescente con tronco indiviso, alcanza una altura de 4 a 5 metros y un diámetro de 25 a 30 cm. En el ápice lleva una gran roseta terminal con numerosas frondas arqueadas y romboideas de 2 a 3 m, coriáceas y glabras. Sus pinas inferiores de 30 a 40 cm de largo por 12 a 15 cm de ancho, el raquis acanalado en el haz; las otras pinas cortamente pediceladas, lanceoladas, de sólo dos centímetros de ancho, con segmentos sésiles.

Este mismo autor menciona que este helecho presenta fertilidad en el otoño y durante el invierno, crece en las quebradas húmedas y protegidas, de la isla Juan Fernández donde es endémico, se desarrolla normalmente entre los 200 hasta los 350 metros sobre el nivel del mar.

RODRIGUEZ y CARRILLO (2003), mencionan que las características ornamentales que presentan muchas de las especies de las Pteridophytas, ha llevado que exista un alto interés comercial por estas especies, provocando un incremento en su extracción y deterioro de sus propios ecosistemas. GUNKEL (1984), señala que *Dicksonia berteriana* se cultiva como planta ornamental de jardines botánicos y en algunas casas particulares.

BRUSSA y GRELA (1999), señalan que el ciclo biológico puede describirse para la mayoría de los helechos, en una etapa reproductiva la cual presenta, estructuras características denominadas esporangios. Estos esporangios, luego de un proceso de división celular conocido como meiosis, forman las esporas, que cuando están maduras son liberadas y transportadas por el agua y el viento. Posteriormente estas esporas germinan y dan lugar a una estructura microscópica conocida como prótalo, sobre la cual en determinado momento se formarán las células sexuales.

Una vez que alcanzan el momento de la reproducción en algunas frondas se generan los cuerpos reproductores, denominados soros, donde están los receptáculos de esporas, llamados esporangios.

La forma de situarse los soros en las frondas suele ser una característica específica y el conocimiento del estado de madurez de los esporangios es de gran ayuda para su reproducción (INFOAGRO, 2003).

En cuanto a los requerimientos los autores (BRUSSA y GRELA, 1999), recomiendan realizar aportes de abono soluble, la relación nitrógeno/potasio debe ser cuidada, pues un exceso de nitrógeno puede originar mal formaciones, como bordes lobulados, una aportación de 100 ppm, utilizando un equilibrio 3:2:3 es aconsejable; además se pueden intercalar abonos foliares sobre todo en invierno. Se recomiendan las siguientes cantidades de nutrientes en Kg/ha en helechos. N(560), P(280), K(510) Ca(150), Mg(110), S(50) y microelementos (Zn, Fe).

2.2 Cultivo de tejido *in vitro* y características generales

El cultivo de tejidos vegetales o cultivo *in vitro* de tejidos vegetales, es una técnica de reproducción en condiciones totalmente asépticas, a partir de un pequeño segmento inicial de tejido es posible regenerar en poco tiempo miles de plantas genéticamente iguales a la planta madre, cuando este tejido es estimulado por medio de variables físicas y químicas en un medio controlado (ACEVES y HERNÁNDEZ, s/f).

PELACHO *et al.*,(2002), menciona que el cultivo *in vitro* de plantas superiores es una técnica que exige un control absoluto del ambiente, tanto físico como químico, en el que se sitúa al explante. Conviene, por tanto, conocer cuales son los principales factores que conforman el ambiente del explante y que deberán ser controlados.

Por otra parte PIERIK (1990), define cultivo *in vitro* de plantas superiores como el cultivo en medio nutritivo, bajo condiciones estériles, de plantas, semillas, embriones, órganos, explantes, tejidos. células y protoplastos de plantas superiores.

2.2.1 Los medios de cultivo y sus componentes

La micropropagación de especies vegetales exige el uso de medios de cultivo más o menos complejos que están compuestos por macro y micronutrientes, aminoácidos y vitaminas, hormonas, compuestos orgánicos complejos, carbohidratos y eventualmente un gelificante (SEEMAN,1993).

El medio desarrollado por Murashige y Skoog (1962), es particularmente rico en nitrógeno y buena proporción de N-NO₃, con respecto a N-NH₄ (aprox. 2:1). Su adecuada composición ha hecho que sea un medio ampliamente usado para la micropropagación de plantas herbáceas (SEEMAN,1993).

2.2.2 Reguladores hormonales o de crecimiento

En líneas habituales, se sabe que los tumores son capaces de proliferarse en medios compuestos estrictamente de sales inorgánicas, una fuente de carbono y una o dos vitaminas. Por otra parte, hay una gran cantidad de tejidos que no crecen en este medio mínimo; estos últimos tejidos, que se supone son normales, sólo crecerán cuando se les suministre alguna sustancia reguladora del crecimiento (PELACHO *et al.*, 2002).

De acuerdo a lo mencionado por el autor anterior, para SCOTT (1984) citado por KRIKORIAN (1991), señala que las auxinas comprenden una gran familia de sustancias que tienen en común la capacidad de producir un agrandamiento y alargamiento celular; promueven la división celular en cultivos de tejidos. Las auxina natural de mayor utilización es AIA .

En los medios para cultivo *in vitro* se incorporan citoquininas estas promueven la división celular y la inducción de yemas adventicias en callos y órganos. Además se usan para la proliferación de tallos axilares por la ruptura de la dominancia apical. Las citoquininas más usadas son BAP y Kinetina (SALISBURY Y ROSS 1994).

Otro de los reguladores hormonales son las Giberelinas la de mayor uso es el GA3, pero debe tenerse en cuenta que es muy sensible al calor pierde el 90 % de su actividad después del auto clavado. Comparado con las auxinas y citoquininas, las giberelinas se utilizan raramente. El ácido Abscisico (ABA) en la mayor parte de los casos produce un efecto en los cultivos *in vitro*, pero en determinados casos promueve la maduración de embriones y en cultivo de células en suspensión, facilita la sincronización de la división celular (SALISBURY y ROSS , 1994).

2.2.3 Vitaminas

Para lograr un buen crecimiento es necesario a menudo suplementar el medio con una o más vitaminas. La tiamina (B1) es la que se utiliza y se la considera un ingrediente esencial. Otras vitaminas también han demostrado tener un efecto positivo en el crecimiento *in vitro*, como son: pidiroxina (B6), ácido nicotínico (B3) y pantotenato cálcico, (B5) (VILLALOBOS y TORPE citado por ROCA y MROGINSKI, 1991).

2.2.4 Aminoácidos

Aunque las células cultivadas son capaces de sintetizar todos los aminoácidos necesarios, la adición de L- glutamina, o una mezcla de aminoácidos es a menudo beneficiosa. Esto es particularmente importante en cultivo de células y protopláastos (PELACHO *et al.*, 2002).

2.2.5 pH del medio

Cuando se prepara un medio de cultivo, después de incorporar todos los componentes, se procede a ajustar el pH final al valor deseado,

añadiendo hidróxido de sodio (OHNa) 0.1 N o ácido clorhídrico (Hcl) 0.1 N al medio (PELACHO *et al* ,2002).

El mismo autor anterior agrega que conviene optimizar el pH del medio para cada caso en concreto, valores inferiores a 3 impiden la solidificación de los agentes gelificantes añadidos a los sólidos, inferior a 3.5 se puede producir licuación; afectar el pH del citoplasma y como consecuencia la actividad de muchas enzimas, no obstante en la mayoría de las situaciones se trabaja con pH entre 5.2 y 5.8.

2.3 Luz y cultivo *in vitro*

Aún cuando muchos factores pueden influir en la micropropagación, los factores físicos juegan un papel determinante. En este sentido (CHEE *et al.*, 1982 citado por VILLALOBOS y TORPE (1991), señalan que la luz y la temperatura han sido los factores físicos considerados más importante en la micropropagación.

De igual modo PELACHO *et al.*, (2002), indica que los principales aspectos relacionados con la luz en el cultivo *in vitro* son: cantidad y calidad luz y la alternativa de los ciclos luz /oscuridad.

Para BÁRCENA *et at.*, (s/f), las principales variables ambientales que inciden en el crecimiento y desarrollo de las plantas son temperatura ambiente, temperatura de raíces, humedad, cantidad y calidad de luz, irradiancia, composición espectral y concentración ambiental de CO₂.

La luz tiene propiedades tales como la longitud de onda, que es la distancia entre dos puntos sucesivos de una onda periódica, en la cual la oscilación tiene la misma fase (PROCOBRE MÉXICO y PROCOBRE CHILE, 2003).

Las unidades comúnmente usadas para la longitud de onda (λ) es el nanómetro (nm) y el ángstrom (Å). El símbolo de la longitud de onda se lee como lambda. Otra propiedad de la luz es la frecuencia (ν) que representa el número de ondas (o bien, de longitudes de onda) que pasan por un punto determinado en un segundo. La unidad utilizada para medir la frecuencia se denomina hertz (Hz) (PROCOBRE MÉXICO y PROCOBRE CHILE, s/f).

APHALO (2001), indica que la luz presenta un comportamiento dual mostrando características de onda y partícula. Además es radiación electromagnética de onda larga la cual es sensible al ojo humano a una longitud de entre 400 y 700 nm. Las partículas de luz (longitud de onda corta) o quantum son llamadas fotones. La energía que contiene un fotón o quantum depende de la frecuencia (color).

$$E = h\nu = hc/\lambda \text{ (vacuum) } (2)$$

Donde: E (energía) es un quantum, o la cantidad de energía que tiene un fotón; h es una constante Planck's; ν es frecuencia; λ , es longitud de onda; y c es la velocidad de la luz al vacío.

Esta definición, coincide con ESCOBAR (2000), quien señala que la luz actúa en forma de onda, y como partícula de energía denominada

fotones o cuantos de luz. La energía de los fotones determina el color de la luz, mientras menor es la longitud de onda (?) se acentúan más las características corpusculares de la luz .

Parte de la energía radiante, tiene influencia conocida sobre el desarrollo de las plantas, a veces, se usa el término luz para referirse a ese conjunto de radiaciones cuando en realidad se refiere al conjunto de radiaciones electromagnéticas con efectos fisiológicos (APHALO, 2001).

La importancia de la luz en las plantas no se limita solo a la captación de energía a través de la fotosíntesis. Estas poseen mecanismos diversos mediante los que detectan las variaciones cualitativas, de intensidad, dirección y periodos de luz, produciendo respuestas adaptativas (Coll *et al.*, 1993 citado por BÁRCENA, s/f).

PELACHO *et al.*, (2002), indica que la luz es uno de los factores que determina el desarrollo de los organismos autótrofos, en ello radica la importancia de controlar la luz en los cultivos *in vitro*.

2.3.1 Naturaleza de la luz

La luz blanca se descompone en diferentes colores (color = longitud de onda) cuando pasa por un prisma. La longitud de onda se define como la distancia de pico a pico de valle a valle (RAISMAN *et al.*, 1999). (Anexo1).

La distribución de los colores en el espectro luminoso está determinada por la longitud de onda de cada uno de ellos. La luz visible es una pequeña parte del espectro electromagnético y cuanto más larga es la longitud de onda de la luz visible tanto más rojo es el color. Asimismo, las longitudes de onda corta están en la zona violeta del espectro. Las

longitudes de onda mas largas que las del rojo se denominan infrarrojas, y aquellas mas cortas que el violeta, ultravioletas (RAISMAN *et al.*, 1999). (Anexo1.1).

Según MILLER (1967), la luz tiene una naturaleza dual, es decir se comporta como onda y partícula. Entre las propiedades de onda luminosa se incluye la refracción de la onda cuando pasa de un material a otro. El efecto fotoeléctrico demuestra el comportamiento de la luz como partícula.

2.3.2 Iluminación de la cámara de cultivo

PELACHO *et al.*, (2002), menciona que la cámara de cultivo debe reproducir lo mejor posible el espectro de la radiación que es activo; por lo tanto, conviene conocer cual es el espectro que emiten nuestras fuentes de luz y en que medida se adapta éste a las necesidades del cultivo.

Para ESCOBAR (2000), ciertas longitudes de onda son las que mejor aprovechan las plantas para realizar sus funciones vitales de fotosíntesis fototropismo o fotomorfogénesis y son concretamente las del azul y rojo. Por lo tanto, al utilizar iluminación artificial, ésta debe suministrarse con lámparas adecuadas que proporcione este tipo de radiaciones.

La duración del día, irradiancia y composición espectral, dependen mucho del tipo de lámpara; casi siempre se utiliza para el cultivo *in vitro*, tubos fluorescentes (tipo blanco frío, aunque en algunos casos se han observado mejores resultados con luz de sodio de alta presión (NORTON y NORTON, 1986 citado por PIERIK 1990).

Los laboratorios holandeses utilizan sobre todo tubos fluorescentes Philips, tipo 33 (38 W) (PIERIK, 1990).

2.3.2.1 Principales sistemas de iluminación artificial

2.3.2.2 Lámparas incandescentes Producen luz por fenómenos de incandescencia del filamento calentado por el paso de la corriente eléctrica. Buena parte del espectro se halla en la zona del rojo/rojo lejano. Producen gran cantidad de calor y mucho consumo de electricidad (PELACHO *et al.*, 2002).

2.3.2.3. Lámparas de vapor de mercurio Producen luz (blanca, azul y verde) por el paso de la corriente eléctrica a través de gases calientes de mercurio a alta presión. Se utilizan durante el período de crecimiento de las plantas por su alta emisión en la zona azul del espectro, pero son pobres en la zona roja por lo que no favorecerá la floración. Son muy eficientes en el consumo de electricidad (ESCOBAR, 2000).

2.3.2.4 Lámparas Fluorescentes Producen luz principalmente azul y roja. Son muy adecuadas para el crecimiento, de vástagos y para enraizar esquejes, por lo que se recomiendan especialmente durante las primeras etapas de las plantas. Son bastante económicas, tienen un elevado rendimiento luminoso y no emiten demasiado calor. El principal problema es que ocupan mucho espacio (PELACHO *et al.*, 2002).

2.3.2.5 Lámparas de vapor de sodio a alta presión Producen luz (amarilla y anarajanda) por la descarga eléctrica en un tubo con vapor de

sodio a alta presión. Sin duda son las mejores, puesto que emiten más luz y menos calor. Proporcionan todos los espectros de luz necesarios para el crecimiento y la floración de las plantas de interior. Son muy eficientes en el consumo de electricidad (ESCOBAR, 2000).

De todas ellas, son los fluorescentes las fuentes de luz más usadas en las cámaras de cultivo, aunque también se pueden encontrar, generalmente en instalaciones industriales, lámparas de vapor (PELACHO *et al.*, 2002).

2.3.2.6 Funcionamiento de las lámparas fluorescentes. Las lámparas fluorescentes son lámparas de descarga eléctrica en atmósfera de vapor de Mercurio a baja presión y un gas inerte (generalmente Argón). La luz se produce por la fluorescencia que transforma en visible a las radiaciones ultravioleta, resultante de la colisión entre electrones y átomos de Mercurio vaporizado (ESCOBAR, 2000).

Estas lámparas tienen un buen rendimiento luminoso que puede llegar a los 70 lúmenes /watt. La vida de la lámpara fluorescente se afecta por el número de encendidos debido que el emisor se consume en cada ciclo de inicio o arranque. Esto se nota de la lámpara fluorescente se afecta por el número de encendidos debido que el material con el oscurecimiento de los casquetes de la lámpara (ESCOBAR, 2000).

2.4 Magnitudes y unidades de medida de la luz

2.4.2 Potencia

Cuando se habla de 25 W o 60 W, se refiere sólo a la potencia, consumida por una lámpara o bombilla de la cual solo una parte se convierte en luz visible (GARCÍA y BOIX, 2000).

2.4.1.2 Flujo luminoso: GARCÍA y BOIX (2000), definen flujo luminoso como la potencia (W) emitida en forma de radiación luminosa la que el ojo humano es sensible. Su símbolo es Φ_v y su unidad es el lúmen (lm). A la relación entre watt y lúmenes se le llama equivalente luminoso de la energía.

En cambio LASZLO (s/f), lo define como la cantidad de luz emitida por una fuente de luz en todas las direcciones, su símbolo es F y Unidad de medida lúmen (lm).

2.4.1.3 Angulo sólido: es la razón entre un área sobre la superficie de una esfera y el cuadrado del radio de la esfera. Su unidad de medida es el estereoradian (PROCOBRE CHILE y PROCOBRE MÉXICO, 2003).

$$w = S/R^2 \quad (2.1)$$

2.4.1.4 Intensidad luminosa: es parte del flujo emitido por una fuente luminosa en una dirección dada, por el ángulo sólido que lo contiene. Su símbolo es I y su unidad de medida es Candela (cd) (LASZLO, s/f).

2.4.1.5 Iluminancia: es el flujo luminoso que incide sobre una superficie, dividido por el tamaño de dicha superficie. Su símbolo es E y su unidad el lux (lx) que es un lm/m² (GARCÍA y BOIX, 2000).

2.4.1.6 Rendimiento luminoso: es el cociente entre el flujo luminoso producido y la potencia eléctrica consumida, que viene con las características de las lámparas (25 W, 60 W), mientras mayor sea mejor será la lámpara y menos gastará. La unidad es lúmen por watt (lm/W). (GARCÍA y BOIX, 2000).

2.4.1.7 Irradiancia: es la energía incidente sobre una superficie unitaria desde todas las direcciones (Wm^{-2}), si se especifica como la energía por unidad de onda entonces se le llama irradiancia espectral ($\text{Wm}^{-2} \text{nm}^{-1}$) (BENAVIDES y RAMÍREZ 2002).

2.4.1.8 Densidad de flujo fotónico fotosintético: es la integral de las densidades de flujo fotónico espectral ($\text{mol m}^{-2} \text{S}^{-1}$) en el rango 400- 700 nm, utilizándose normalmente las siglas PPF, comúnmente con las unidades de micromol $\text{m}^{-2} \text{S}^{-1}$ (BENAVIDES y RAMÍREZ 2002).

2.5 Relación de la luz sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas

TLALKA *et al.*, (1999), describe que las plantas poseen la habilidad para percibir y responder a las variaciones de intensidad y calidad de la luz, para su fisiología y desarrollo. Además agrega que clásicamente estas respuesta a la luz, tienen un grupo de longitudes de onda que incluye UV-C (200-280nm), UV-B (280-320nm), UV-A (320-390nm), luz azul (390-500nm) y roja/roja lejana (600- 750 nm).

Luego otros autores mencionan, que características manifiestan los tipos de luces, en ciertas especies vegetales y de acuerdo a las condiciones en que se encuentren; es así como BEAUCHESNE *et al.*, (1970), citado

por PIERIK (1990), demostraron que si se añade IAA, las luces roja y verde son mucho más efectivas que la azul para estimular el crecimiento de los tejidos de tabaco.

De acuerdo a lo señalado por PIERIK (1990), la luz azul descompone el IAA, aunque no el NAA, limitando en consecuencia el crecimiento. Estos resultados no son validos para los tejidos de sauce, crisantemo y dalia.

Los rayos azules (440nm) son principalmente responsable del fototropismo (KAGAWA y WADA 2002), es decir movimientos de las plantas en respuesta a la luz.

Los mismos autores anteriores indican que la luz azul induce o promueve la relocalización de los cloroplastos, así lo demuestran resultados que revelan los fotorreceptores del foto sistema I y II, controlan la acumulación de cloroplastos, pero que sólo el foto sistema II es responsable de anular el movimiento.

La luz roja (660nm) también estimula la formación de raíces adventicias, en *helianthus tuberosus*, más que la luz azul. (LETOUZÉ y BEAUCHESNE, 1969 citado por PIERIK, 1990).

ECONOMOU, (1986) citado por (PIERIK) 1990, agrega que la luz roja promueve la formación de raíces adventicias en *Rhododendron* y en *Petunia hybrida*. Toda esta información nos conduce a que el sistema rojo/rojo lejano es importante para la formación de raíces y vástagos adventicios

LITZ y JARRET, (1991) citado por ROCCA y MROGINSKI (1991), señalan que usualmente, un fotoperíodo de 12 a 16 horas con 1000 a

3000 lux son suficientes para inducir la organogénesis; por otra parte un cambio en la intensidad lumínica puede causar organogénesis HASEGAWA *et al.*, (1973), citado por ROCCA y MROGINSKI (1991), donde puede ocurrir cambios morfogénéticos específicos debido a la longitud de onda de iluminación, por ejemplo una mezcla de colores rojo y azul afecta la formación de vástagos en *Heloniopsis orientalis*.

Los autores WARD y VANCE (1968), citado por PIERIK (1990), demostraron que el crecimiento del callo de *Perlargonium* era mejor con luz blanca y azul, en comparación con roja o verde o la oscuridad total.

En la mayor parte de los casos ocurre que la luz roja promueve la formación de vástagos adventicios: esto lo señalan KADKADE y JOBSEN (1978), citado por PIERIK (1990), en *Psedotsuga menziessii*, al igual que en *Petunia hybrida* (ECONOMOU y READ, 1986), citado por PIERIK (1990), y el autor BAGGA *et al.*, (1986) citado por PIERIK (1990) atribuye a la luz roja la formación de vástagos adventicios en *Brassica oleracea* var. Botrytis.

Sin embargo los autores DEGANI y SMITH (1986), citado por PIERIK (1990), trabajando con tabaco, son los únicos autores que han descrito un efecto inhibitorio sobre la organogénesis, por parte de la luz roja.

Los autores SHARKEY y RASCHKE (1981), citado por SALISBURY y ROSS (1994), mencionan que para provocar una apertura estomática, la luz azul entre 430 y 460nm fue más eficaz que la roja entre 630 y 680nm. En cambio la respuesta a la luz roja es debida a la luz absorbida por la clorofila, pero el efecto de la luz azul es independiente de la fotosíntesis. Aún así HEREDIA y FERNÁNDEZ (s/f), señalan que las células oclusivas,

principalmente las H⁺- ATPasas de estas se activan tanto por luz azul como roja.

LEGNANI y MILLER (2000), realizaron un experimento, conducido a evaluar el efecto del fotoperíodo sobre el crecimiento y peso seco en la separación de *Dahlia spp.* (variedad rosa soleada), durante la producción de semilla y botonado, cuando estaban en macetas con unos 10cm. Estos autores sostienen que el total de plantas no fueron afectadas por el fotoperíodo; sin embargo, las de día largo inhibieron la tuberización, desarrollo de raíces y mostraron incremento de los brotes.

En un cultivar de *begonia x hiemalis*, por ejemplo, la proliferación de vástago se incrementa con intensidades lumínicas desde 3000 a 6000 lux. (ECONOMON y READ, 1987).

En cambio los tejidos callosos de begonias venosa que regeneran brotes adventicios son muy sensibles a la irradiancia, los mejores resultados corresponden a un nivel bajo de irradiancia 3 Wm² (PIERIK y TETTEROO 1986, citado por PIERIK , 1990).

En especies leñosas como *Pinus sylvestris*, la luz roja lejana ha estimulado la formación de vástagos axilares, mientras que la luz azul (420 y 467 nm) a irradiancias 100 μ Wcm⁻² no tiene efecto en la formación de vástagos. Para alta irradiancia 400 μ Wcm⁻² de luz roja promueve el crecimiento de callos (AHUJA, 1993).

CHORY y WEIGEL (2002), intentaron entender la variación natural de la sensibilidad a la luz en *Arabidopsis thaliana*, expusieron plantas a los mismos niveles de luz azul, roja o roja lejana, luz blanca y a la oscuridad

total, para así revelar la variación en las vías de señalización que se sabe son sensibles a esas longitudes de onda, luego de medir la longitud del vástago embrionario, se pudo cuantificar la sensibilidad de cada planta a la luz, observando que los hipócotilos tienden a extenderse más en presencia de luz más baja.

2.5.1 Fotosíntesis

LUENGO (s/f), se refiere a la fotosíntesis como un proceso metabólico complejo, donde las células obtienen energía química. Además sostiene que la radiación luminosa llega a la tierra en forma de fotones, los organismos fotosintéticos captan esa luz, a través de pigmentos fotosintéticos. De esa forma transforman el agua y CO₂ en compuestos orgánicos reducidos (glucosa). Expresándose como:



BALDINI (1992), menciona que en la fotosíntesis están implicadas sustancialmente las radiaciones correspondientes a la banda espectral comprendida entre 400 y 700 nanómetros por lo que se la denomina con la sigla **PAR** (rango fotosintéticamente activo).

2.5.1.1 Respuestas fisiológicas, de las plantas frente a estímulos de luz Las plantas funcionan como transductores energéticos transformando la energía libre que es acarreada por los fotones transformándola en energía química y en potencial reductor que se almacenan en componentes moleculares especializados (GASTON *et al.*, 1980 citado por BENAVIDES y RAMÍREZ, 2002)

MURAKAMI *et al.*, (1996), citado por BÁRCENA *et al.*, (s/f), señala que la composición espectral de la luz, es percibida, por el sistema del fitocromo que puede presentarse en dos formas activas conocidas, como fitocromo rojo (Pr) y fitocromo rojo lejano (Pfr). Estas formas activas cambian de una a otra, según reciban luz roja con máximo de absorción en 660 nm o rojo lejano con máximo de absorción en 730 nm. Cada forma desencadena respuestas fisiológicas diferentes.

Además BÁRCENA *et al.*, (s/f), señala que la luz controla el desarrollo y crecimiento de las plantas a través de los procesos de: fotosíntesis, cuya tasa de conversión de energía luminosa en energía química está determinada fundamentalmente por la intensidad de radiación en el espectro luminoso visible.

El mismo autor menciona otras respuestas fisiológicas como fotorespiración, que se produce en presencia de luz y su tasa depende, de la intensidad luminosa; y además de procesos fotomorfogénicos como: floración, dormición, desarrollo vegetativo dependen de la duración relativa de los periodos de luz y oscuridad.

SALISBURY y ROSS (1994), sostienen que la luz es un importante factor ambiental, que controla el crecimiento y el desarrollo de las plantas, por una primera parte en la fotosíntesis. De igual modo señala que influye en el fototropismo y al control de la morfogénesis por medio de la luz se le conoce como fotomorfogénesis.

Además sostiene que para que la luz controle el desarrollo de la planta, ésta primero debe absorber luz, para esto se conocen cuatro tipos de fotorreceptores que influyen en la fotomorfogénesis de las plantas.

2.5.1.2 Moléculas importantes para el desarrollo de las plantas

SERGER y SCHMIDT (1986), citado por BENAVIDES y RAMIREZ (2002), afirma que un estímulo, por medio de un receptor adecuado, desencadena una cascada de señales, la cual es traducida a una señal bioquímica por acción de diferentes transductores, que son llamados pigmentos que absorben la radiación de diferentes longitudes de onda en cromóforos específicos.

ESCOBAR (2000), define a un pigmento como cualquier sustancia que absorbe luz y el color del pigmento esta dado por la longitud de onda no absorbida, por lo tanto reflejada. Los pigmentos tienen un espectro de absorción característico de cada uno de ellos.

En cambio para APHOLO (2001), los fotoreceptores, son moléculas pigmentadas que absorben luz (320nm a 760nm). Estos pigmentos se clasifican principalmente en dos grupos: (1) aquella para la cual la cantidad de energía absorbida es relativamente una fracción larga de incidencia de luz, llamado pigmentos masa, porque se encuentran en concentraciones relativamente altas en los tejidos de las plantas. (2) aquellos pigmentos que absorben una pequeña fracción de la luz incidente llamados pigmentos sensor.

Los pigmentos del primer grupo absorben fotones que conducen procesos metabólicos, similar a la clorofila, o absorben fotones perjudiciales, semejante a antocianinas y flavonoides, pueden disiparse como energía para proveer protección a otros componentes celulares (APHOLO, 2001).

Los pigmentos del segundo grupo, tienen por función adaptar los programas de desarrollo y comportamiento de las plantas en su medio ambiente como establecimiento y localización. Estos pigmentos son rojo/rojo lejano (fitocromos), azul/UV-A y UV-B fotosensores o fotorreceptores (APHOLO, 2001).

2.5.1.3 Clorofila ESCOBAR (2000), señala que es el pigmento verde común a todas las células fotosintéticas, absorbe las longitudes de onda del espectro visible, excepto las de la percepción global del verde, detectado por nuestros ojos. (Anexo 1.2).

VEGA (s/f), Agrega que es una molécula que se compone de una cabeza que contiene cuatro anillos de carbono/nitrógeno unidos formando un anillo mayor en el centro, donde existe un átomo de magnesio, tiene una estructura policíclicas plana, además es de color verde debido a que absorbe preferentemente la luz roja y azul y transmite la verde.

2.5.1.4 Fitocromo SALISBURY y ROSS (1994), mencionan que el fitocromo absorbe principalmente luz del rojo y del rojo lejano; es el que mejor se conoce. Para ESCOBAR (2000), los fitocromo son pigmento azul - verdoso de las plantas, que se encuentran en las hojas, detectando el largo del día y generando una repuesta.

De igual modo el mismo autor señala que el fitocromo rojo lejano es la forma fisiológicamente activa que revierte a fitocromo rojo cercano espontáneamente, en un período oscuro prolongado, o se destruye.

PASTENES (s/f), menciona que los fitocromos están constituidos por una proteína de 125 Kda unida a un cromóforo y además por dímeros.

Este cromóforo de los fitocromos es un tetrapirrol lineal denominado fitocromobilina y a su vez señala que la síntesis de fitocromo dependen de genes nucleares y de plastidios, por lo tanto la fitocromobilina es sintetizada de los plástidios. También señala las respuestas inducidas de los fitocromos sobre algunas especies vegetales. Ver (Anexo 1.3).

En cambio MARTINEZ *et al.*,(s/f), sostiene que los fitocromos son proteínas solubles que se encuentran en las semillas, hojas, tallos, raíces y demás órganos de la planta. Aparecen en dos configuraciones intercambiables, denominadas Pr y Pfr. De la absorción de la luz roja se encarga la forma Pr, de la radiación roja lejana, la forma Pfr. La forma activa (Pfr) se localiza preferentemente en el núcleo celular y la forma Pr en el citoplasma.

Para otros autores como JARRILLO *et al.*, (2001), describen la existencia de otros fitocromos de los cuales tenemos el fitocromo A (PhyA), presente solo en angiospermas, responsable primero en eventos de la germinación y emergencia. Fitocromo B (PhyB) es considerado responsable en la detección de la duración del día, floración y tuberización en papas, a través de mecanismos que aún no son comprendidos. Fitocromo C (PhyC) es el que se encuentra en menor abundancia de la familia de fotoreceptores en Arabidopsis.

2.5.1.5 Criptocromo Para SALISBURY y ROSS (1994), son un grupo de pigmentos similares y no identificados que absorben longitudes de onda del azul y ultravioleta de onda larga (región UV-A, 320 A 400 nm), y debe su nombre a su especial importancia en plantas criptógama.

CANTÓN (s/f), se refiere a los criptocromos como aquellos receptores de luz UV-A y azul. En cambio CHRISTOPHER., *et al* (2003), mencionan que los criptocromos y el fototropins, son fotoreceptores de luz azul y ambas moléculas son flavoproteínas, que se encuentran en diversas plantas incluyendo a *Arabidopsis thaliana*, *Avena sativa*, *Oryza sativa* y *Zea mays*.

2.5.1.6 Fotorreceptor UV-V Uno o más compuestos no identificados que absorben radiación ultravioleta con longitudes de onda entre 280 y 320 nm técnicamente no son pigmentados (SALISBURY y ROSS, 1994).

2.5.1.7 Pigmentos accesorios Incluyen a la clorofila b, c y d; los carotenoides, como el betacaroteno y las xantofilas , absorben la energía no absorbida por la clorofila (ESCOBAR, 2000).

Para SALISBURY y ROSS (1994), existe la fotoclorofilina a, pigmento que absorbe luz roja y azul, una vez reducido, da clorofila a.

TANADA, (1997) citado por APHALO (2001), sugiere la existencia de otros fotoreceptores en las plantas llamado heliocromo, además señala que es posible descubrir en el futuro nuevos fotoreceptores.

III MATERIAL Y MÉTODO

3.1 Lugar de trabajo.

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos, de la Escuela de Agronomía de la Universidad Católica de Temuco Campus San Francisco, IX Región Chile. Durante Marzo 2002 hasta Abril 2003.

3.2 Materiales

3.2.1 Material de laboratorio

El material de laboratorio utilizado, para la preparación de los medios de cultivo fue vasos precipitados, pipetas, matraces aforados, frascos de vidrio, balanza analítica, espátulas, pH metro, agitadores magnéticos y agar, entre otros, como un luxímetro, para medir la intensidad lumínica y lupa estereoscópica para observar el proceso de germinación de las esporas de helecho.

El material quirúrgico para cortar el material vegetal consistió en pinzas, bisturís y tijeras, los que fueron esterilizados en una estufa a 180°C por dos horas.

La esterilización de los medios cultivos *in vitro* se realizó en un autoclave por 15 minutos a una presión de 1.05 Kg/cm² de atmósfera.

El trabajo de microprogación de las especies *in vitro* se realizó en una cámara de flujo laminar horizontal, modelo SG-250 de The Baker Company.

3.2.2 Material utilizado para la desinfección de esporas

La desinfección de las esporas se realizó con etanol, fungicida, hipoclorito de sodio y papel filtro para el caso de las esporas.

3.2.3 Material vegetal

Se utilizaron especies nativas: papa meca de gato (*Solanum tuberosum* L.); copihue (*Lapageria rosea* Ruiz et Pav.) colectada en la IX Región, y murtilla (*Ugni molinae* T.), conservadas *in vitro* en el laboratorio de cultivos de tejidos de La Escuela de Agronomía; las especies ornamentales begonias (*Begonias rex*) y dalia (*Dahlia spp*), se tomaron del invernadero de la Escuela de Agronomía. Las esporas del helecho (*Dicksonia berteriana*), especie arbórea endémica cuyas frondas, fueron colectadas en la Isla Juan Fernández, V Región Chile.

Para disponer de una adecuada cantidad de plantas, se procedió a la multiplicación *in vitro* del material vegetal en el medio MS (Murashige y Skoog, 1962) suplementado con hormonas (ANA, BAP) en cantidad de 1ml, respectivamente, para luego de transcurrido 1,5 meses montar el experimento.

3.3 Metodología

3.3.1 Esterilización del material de vidrio he instrumentos

Todo el material de vidrio fue lavado con detergente comercial concentrado, y enjuagado dos veces, el primer enjuague se realizó con agua de la llave y el segundo enjuagada con agua destilada estéril; posteriormente, se seco en una estufa de secado a una temperatura de 180 °C por 2 horas.

Los frascos que contenían el medio MS (Murashige y Skoog, 1962) se autoclavaron por 15 minutos a 120 ° C.

3.3.2 Desinfección de las esporas de *Dicksonia berteroana*

Previo a la siembra de las esporas de este helecho se realizó una rigurosa desinfección la que considero, los siguientes pasos:

- Disposición de una pequeña porción de esporas, en un disco de papel absorbente, equivalente al perímetro de una placa petri; esparciendo las esporas en el centro del papel en forma circular, para luego doblar el papel y fijarlo con un clip.
- Inmersión por 30 minutos de las esporas en una solución del fungicida captan al 2,5%, al que se le adicionó 1 gota de detergente liquido comercial.

- Inmersión por 10 segundos de las esporas en una solución de etanol al 96%.

- Inmersión por 10 minutos de las esporas en una solución de hipoclorito de sodio al 2,5%.

- Aplicación de 4 enjuagues con agua destilada estéril.

3.3.3 Habilitación del ensayo

3.3.3.1 Acondicionamiento de la cámara de cultivo. Se aisló la cámara de cultivo en tres secciones, la luz blanca y azul, fue proporcionada con lámparas fluorescentes marca Philips modelo TLD/830 de 36 Watt (luz día) y modelo TLD/18 de 36 Watt (luz azul), observar (Anexo1.4) y (Anexo 1.5). La luz roja, fue proporcionada con 4 lámparas tipo sombrero, marca Philips, modelo PAR 38, distantes 30cm una de otra. (Anexos1.6) y (Anexo 1.7). Las tres secciones se mantuvieron a una temperatura de 24°C, la intensidad de la luz fue de 2500 lux, la que fue medida con un luxímetro y bajo un fotoperíodo de 16 hrs.

3.3.3.2 Multiplicación y enraizamiento *in vitro*. Las especies vegetales fueron micropropagadas en una cámara de flujo laminar la que previamente fue desinfectada con etanol 96% y ventilada por 30 minutos.

3.3.3.3 Establecimiento y duración del ensayo Una vez que el material vegetal fue suficiente en cantidad, se procedió a repicar, las especies vegetales, en el medio MS, (Murashige y Skoog,1962) sin hormona y MS líquido, para los helechos.

Los explantes de las especies (dalias, papas, murta y copihue) fueron tomados de los nudos de los tallos, que es la zona donde existe mayor número de células meristemáticas; para las begonias se utilizó los pecíolos y para *Dicksonia*, las esporas tomadas de sus frondas.

Luego de haber repicado el material vegetal, los frascos debidamente rotulados fueron dispuestos, en la cámara de cultivo. La duración del ensayo correspondió a la temporada Marzo 2002 hasta Abril 2003, respondiendo principalmente a las fechas de siembra y posteriormente a las evaluaciones de las especies estudiadas. Observar (Anexo 1.8).

3.3.4 Diseño experimental

Para la investigación se realizó un diseño experimental completamente al azar (CA), con tres tratamientos y 40 repeticiones por tratamiento, para cada una de las especies estudiadas los tratamientos consistieron en tres longitudes de onda blanca, azul y roja.

3.3.4.1 Variables estudiadas De acuerdo a las fechas de siembra, para cada una de las especies, y a sus características de desarrollo, al final de cada uno de los períodos establecidos, observar (Anexo 1.8), se evaluaron las siguientes variables que se observan en el Cuadro 1.

CUADRO 1. Variables estudiadas, según las especies micropropagadas.

VARIABLES ESPECIES	<i>Dahlias</i> <i>spp.</i>	<i>Begonia</i> <i>rex.</i>	<i>Solanum</i> <i>tuberosu</i> <i>m L.</i>	<i>Ugni</i> <i>molinae T.</i>	<i>Lapageria</i> <i>rosea Ruiz</i> <i>et Pav.</i>	<i>Dicksonia</i> <i>berteroana</i>
Altura (centímetros)	VE ¹	VE ¹	VE ¹	VE ¹	VE ¹	VE ¹
Número de hojas Verdaderas	VE ¹	VE ¹	VE ¹	VE ¹	VE ¹	VNE ²
Número de raíces	VE ¹	VE ¹	VE ¹	VE ¹	VE ¹	VNE ²
Longitud de raíces (centímetros)	VE ¹	VE ¹	VE ¹	VE ¹	VNE ²	VNE ²
Número de nudos	VE ¹	VE ¹	VE ¹	VE ¹	VE ¹	VNE ²
Número de brotes	VE ¹	VE ¹	VE ¹	VE ¹	VE ¹	VNE ²
Presencia o ausencia de callo	VE ¹	VNE ²	VNE ²	VNE ²	VNE ²	VNE ²
Presencia o ausencia de microtubérculos	VNE ²	VNE ²	VE ¹	VNE ²	VNE ²	VNE ²
Germinación de esporas (muestras)	VNE ²	VNE ²	VNE ²	VNE ²	VNE ²	VE ¹
Diámetro de prótalo (milímetros)	VNE ²	VNE ²	VNE ²	VNE ²	VNE ²	VE ¹

VE¹ = Variables estudiada **VNE²** = Variables no estudiada

3.3.4.2 Análisis de resultados Los datos paramétricos fueron sometido a Análisis de Varianza (ANDEVA de Fisher) y Pruebas de Comparación de medias de Tukey, con el programa (Statistical Products and Service Solutions) SPSS 10.0. y Excel para Windows (Microsof).

Donde no se cumplió el supuesto de Normalidad y Homogeneidad de varianzas, se procedió a realizar transformación de los datos originales, mediante un análisis exploratorio de los datos. En los casos donde la transformación no homogenizó las varianzas, se utilizó la Prueba no paramétrica de Kruskal y Wallis, que representa una excelente alternativa al ANOVA de un factor.

Para apreciar si, existía diferencia significativa entre tratamientos, se utilizó Prueba de Tamhane. Para el análisis de la presencia o ausencia de callo y microtubérculos en dalias y papas se realizaron Tablas de Contingencia.

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Respuesta de las especies vegetales a las longitudes de onda

4.1.1 Begonia

En el Cuadro 2 se observa que el promedio más alto para la variable altura correspondió al ejercido por el Tratamiento 3 (luz roja); con un valor de 1.68 cm, los otros tratamientos formaron un solo grupo, con promedios estadísticamente similares (0,93 cm para luz blanca y 0,63 cm para luz azul). La luz azul, provocó los promedios más bajos para la variable altura, esto se relaciona con trabajos de investigación donde KAUFMAN (1993), citados por BENAVIDES y RAMÍREZ (2002), mencionan un efecto de inhibición al alargamiento y escaso desarrollo del hipocotilo por efecto de la luz azul, donde se ha encontrado además que la distribución diferencial de biomasa, dependen de la acción de receptores de radiación azul.

Para el parámetro número de hojas, los mayores promedios se obtuvieron con los Tratamientos 1 y 3 (luz blanca y luz roja respectivamente), formando estadísticamente un solo grupo, con valores mayores de 5.36 y 4.28 en comparación con el Tratamiento 2 (luz azul), que obtuvo un valor promedio de 1.82. (Anexo 2).

CUADRO 2. Valores promedios del efecto de tres longitudes de onda sobre; altura (cm), número de hojas, número de brotes, número raíces y longitud de raíces en *Begonia rex*, cultivada *in vitro*.

VARIABLES TRATAMIENTOS	ALTURA ¹ cm	HOJA ² Nº	BROTE ¹ Nº	RAIZ ² Nº	LONG RAIZ ¹ Nº
T₁ luz blanca	0.93 ^b	5.36 ^a	1 ^a	4.81 ^b	2.48 ^b
T₂ luz azul	0.63 ^b	1.82 ^b	1 ^a	6.88 ^a	1.64 ^b
T₃ luz roja	1.68 ^a	4.28 ^a	1 ^a	2.82 ^c	3.93 ^a

Letras distintas en la columna indican diferencias significativas según test de Tukey (1) y Tamhane (2).

Los investigadores YANAGI y OKAMOTO (1997), utilizaron dos sistemas de iluminación uno que emite luz super brillante llamados (SBLEDs), que transmiten luz roja pura con un peak de 660 nm de longitud de onda, y el otro sistema de lámparas fluorescentes especiales (FLPGs) de 40 W, con una intensidad de 125 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ bajo ambos sistemas colocaron 5 plantas de espinacas; observando que el área foliar y la producción de materia seca fue significativamente menor en las plantas donde se uso el sistema (SBLEDs), en comparación a las que se mantuvieron bajo las lámparas fluorescentes (FLPGs).

De esto podemos discutir que la luz roja no jugo un papel importante en estos parámetros evaluados, lo cual se contrapone con los análisis del presente estudio, ya que el crecimiento aéreo de las begonias, fue significativamente mayor con la luz roja.

Los Tratamientos no manifestaron diferencias significativas para la variable número (Nº) de brotes, con un promedio 1 para la especie begonia.

El número de raíces (Nº) presentó un mayor promedio (6.88) con el Tratamiento 2 (luz azul), siendo significativamente superior en comparación a las luces blanca y roja (4.81 y 2.82).

Para la longitud de raíces, los mayores promedios correspondieron a los ejercidos por luz roja (3.93), los Tratamientos (1 y 2) luz blanca y luz azul formaron estadísticamente un solo grupo con promedios similares con valores de 2.48 y 1.64 para cada caso.

4.1.2 Dalias

De acuerdo a lo indicado en el Cuadro 3, los mayores promedios para la altura de planta en (cm) fue el ejercido por el Tratamiento 3 (4.81), los Tratamientos 1 y 2 formaron un solo grupo con promedios estadísticamente similares con valores de 3.15 y 1.84 centímetros respectivamente (Anexo 2.1).

Para los parámetros evaluados número de hojas, número de raíces y número brote, no presentaron diferencias significativas, con los tratamientos en estudio (luz blanca, luz azul y luz roja).

El número de nudos, alcanzó un mayor promedio con luz roja (2.48), los Tratamientos 1 y 2 formaron un solo grupo sin diferencias significativas entre ellos (1.55 y 0.91 respectivamente).

CUADRO 3. Valores promedios del efecto de tres longitudes onda sobre; altura (cm), número de hojas, número de brotes, número de raíces, longitud de raíces en *Dahlia spp*, cultivada *in vitro*.

VARIABLES	ALTURA ¹	HOJA ¹	RAIZ ¹	BROTE ¹	NUDOS ¹
TRATAMIENTOS	cm	Nº	Nº	Nº	Nº
T₁ luz blanca	3.15 ^b	5.65 ^a	0.21 ^a	1.10 ^a	1.55 ^b
T₂ luz azul	1.84 ^b	3.88 ^a	0.59 ^a	1.11 ^a	0.91 ^b
T₃ luz roja	4.81 ^a	4.88 ^a	0.14 ^a	1.14 ^a	2.48 ^a

Letras distintas en la columna indican diferencia significativa según test de Tukey. (1)

La literatura reporta que las dalias necesitan de fotoperíodos cortos para estimular el desarrollo de raíces, disminuyendo el número de brotes, esto puede explicar, en cierto modo el escaso desarrollo de raíces, los siguientes autores (LEGNANI y MILLER, s/f) al trabajar con esta especie bajo días cortos (CD), 9 horas de flujo fotónico fotosintético (PPF) y días largos (LD), 9 horas de flujo fotónico fotosintético (PPF) más 4 horas con lámparas incandescentes y además todas las plantas recibieron 9 horas de radiación fotosintéticamente activa (PAR) de 900 a 1800 hr, llegando a determinar que los días largos (LD) inhiben el desarrollo de raíces, pero incrementan el área foliar y número de hojas. Estos resultados podrían explicar en cierto modo, la escasa presencia de raíces, para los tres tratamientos cuestionados, ya que las plantas estaban bajo un régimen de fotoperíodo largo; pero no existe evidencia significativa de que haya sido mejor para las variables número de hojas y número de brotes.

En la Figura 1 se exhibe, el recuento del mayor número de ausencia de callo correspondiendo a la luz roja, representando un 29.0%, con un recuento de 31 muestras, donde no se desarrollaron callos de un total de 35 muestras. Luego para los tratamientos 1 y 2 (luz blanca y luz azul) representa un 18,7 % de ausencia de callo, con un recuento de 20 muestras en cada caso respectivamente, de un total de 38 muestras para luz blanca y 34 muestras para luz azul.

En el caso de la presencia de callo el mayor recuento se observa en el Tratamiento 1, (luz blanca) con 18 muestras, representando un 16,8% de ellas, luego le corresponde al Tratamiento 2 (luz azul) con 13,1% y un recuento de 14 muestras con presencia de callo (Anexo 2.1.1)

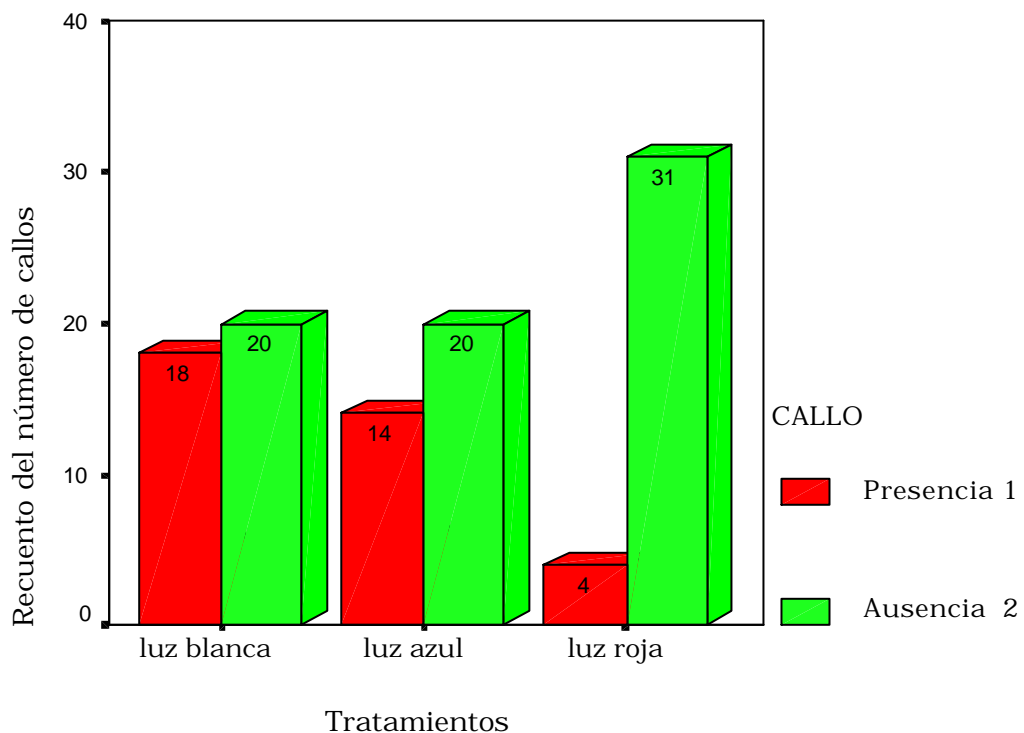


FIGURA 1. Número de callos presentes y ausentes en *Dahlia spp.*, cultivada *in vitro* bajo los distintos Tratamientos luz blanca, azul y roja.

En estudios realizados por BACH *et al.*, (2000), en micropropagación de plantas ornamentales, tales como: *Freesia sp.*, *Hyacinthus sp.*, *Lilium sp.*, y *Cyclamen sp.*, bajo variados regímenes de luz (azul, verde, amarilla, roja, roja lejana, blanca, radiación UV y oscuridad), quedó demostrado que la luz roja promueve la formación de callos, en cambio la luz azul y radiación ultravioleta (UV), estimula la embriogénesis somática, pero inhibe la maduración de embriones somáticos de *Freesia sp.*, *Hyacinthus sp.* y *Cyclamen sp.* Además el número de bulbos adventicios o cormos fue más alto cuando los explantes fueron irradiados con luz roja.

En el caso de la especie estudiada (*Dahlia spp.*), los resultados, discrepan con el autor, ya que en este caso el Tratamiento con luz roja, no estimuló el desarrollo de callos.

4.1.3 Papas

Como se muestra en el Cuadro 4, para la variable altura los mayores promedios se obtuvieron con el T₁ (luz blanca) siendo significativamente mayor alcanzando un valor de (11.89) en relación al T₃ que fue de (8.37) y T₂ (5.64) (Anexo 2.2).

Para el número de hojas, se formaron 2 grupos estadísticamente distintos uno integrado por el T₂ (5.87) y T₃ (5.37), que alcanzaron los promedios más bajos y el T₁ que alcanzó el promedio más alto con un valor de (8.69).

CUADRO 4. Valores promedios del efecto de tres longitudes de onda sobre; altura (cm), número de hojas, número de raíces, longitud de raíces, número de brotes, número de nudos, en *Solanum tuberosum* L., cultivada *in vitro*.

VARIABLES	ALTURA²	HOJA¹	RAIZ¹	LONG RAIZ¹	BROTE¹	NUDOS¹
TRATAMIENTOS	cm	Nº	Nº	cm	Nº	Nº
T₁ luz blanca	11.89 ^a	8,69 ^a	4,04 ^{ab}	7,16 ^a	1 ^a	4,47 ^a
T₂ luz azul	5.64 ^c	5,87 ^b	5,00 ^a	6,09 ^{ab}	1 ^a	3,04 ^b
T₃ luz roja	8.37 ^b	5,37 ^b	3,70 ^b	5,50 ^b	1 ^a	3,41 ^b

Letras distintas en la columna indica diferencias significativas según Test de Tukey (1) y Tamhane (2).

En el Número de raíces no hubo diferencia significativa entre los tratamientos, con valores que fluctúan entre 5 con T₂ (luz azul), 4 con T₁ (luz blanca) y 3.7 con T₃ (luz roja).

Para longitud de raíces, el mayor promedio correspondió al T₁ (luz blanca) con un valor promedio de 7.16 cm que no difiere del T₂ con un valor de (6.09 cm), pero si respecto al T₃ (5.5 cm), este último fue similar al Tratamiento 2.

En el número de brotes, no se observaron diferencias significativas con los tratamientos en estudio (luz banca, azul y roja), presentando valores similares (1) para cada uno de ellos.

Para el número de nudos se observó que el mayor desarrollo se alcanzó con el T₁ (4.47), mientras que el T₂ (3.04) y T₃ (3.41) se

comportaron de similar forma con valores menores en comparación al Tratamiento 1.

La literatura reporta que la luz roja y roja lejana, ejerce efectos sobre el crecimiento y desarrollo morfológico en papas cultivadas *in vitro*, emitidas por diodos y lámparas fluorescentes; determinando que la longitud del vástago aumenta con el rojo lejano (Fr) con una densidad de flujo fotónico de 0.1 a 0.5; y el peso seco, junto con el área foliar de la hoja son más pequeños con una proporción del rojo (R), con una densidad de flujo fotónico de 1.0 (PPFD) (MIYASHITA *et al.*, 1994).

Luego MIYASHITA *et al.*, (1997), nuevamente estudió el efecto de luz roja (con un peak de 660 nm de longitud de onda) y roja lejana (con un peak de 730 nm), sobre la morfología y crecimiento en plantas de papas cultivadas *in vitro*, en medio Murashige y Skoog, libre de azúcar usando como fuente de luz diodos (LEDs), rojo y rojo lejano, lámparas fluorescentes blancas y azul. La longitud de raíces se incrementó con las porciones de rojo lejano (Fr), el peso seco y área foliar fueron más pequeño con la luz roja (R).

Esto último es semejante con los resultados obtenidos en la presente investigación, ya que el área foliar (considerando número de hojas), se manifestaron en menor promedio, con la luz roja (T₃).

Como se muestra en la Figura 2 el T₂ (luz azul), presentó un mayor recuento de presencia de microtubérculos, alcanzando un 14.1% del Tratamiento, con un recuento de 10 muestras con microtubérculos, luego le sigue el T₃ (luz roja), con un recuento de 2 muestras con presencia de microtubérculo, representando un 2.8% del Tratamiento. El T₁ (luz

blanca), solo representa un 1.4% de una muestra con un recuento de microtubérculo. Observar (Anexo 2.2.1 y Anexo 2.2.2)

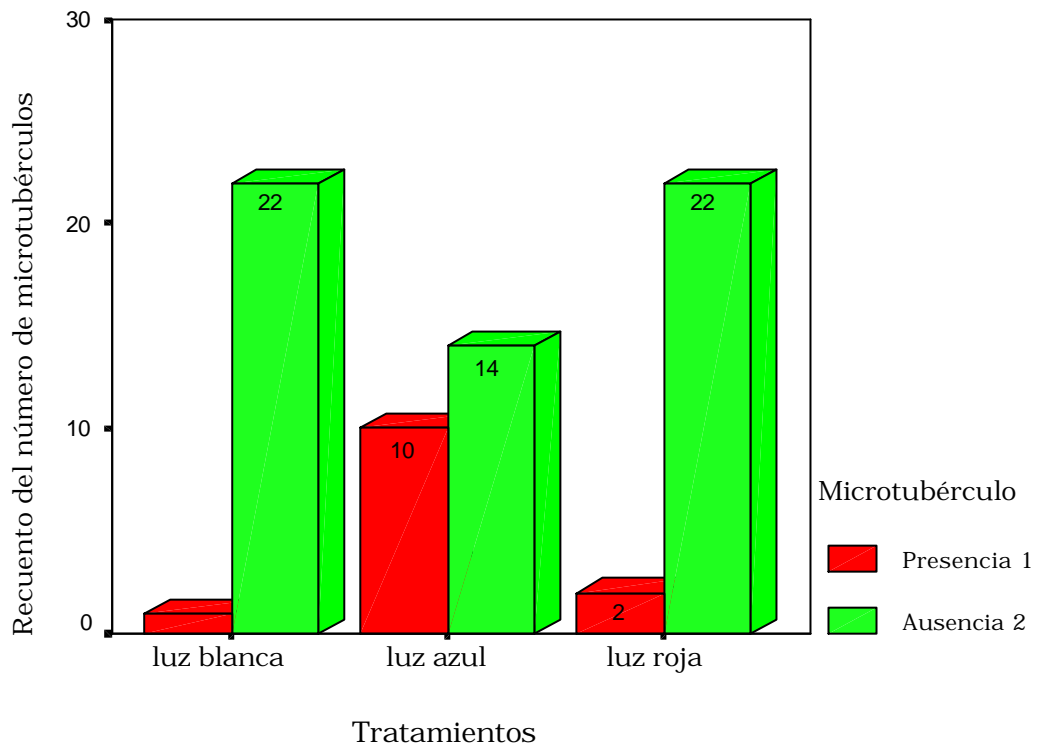


FIGURA 2. Número de microtubérculos obtenidos en *Solanum tuberosum* L., cultivada *in vitro*, bajo los tres Tratamientos luz blanca, azul y roja.

Además se puede apreciar en la Figura 2 que los mayores recuentos en ausencia de microtubérculos corresponden al T₁ y T₃ alcanzando un 31% para ambos Tratamientos con 22 muestras para cada uno de ellos donde no hubo microtubérculo.

A la luz de estos resultados podemos mencionar que el recuento de presencia de microtubérculo, obtenidos es bajo para todos los tratamientos, ya que *in vitro* se utiliza frecuentemente este método de

propagación para obtener muchos microtubérculos en miniatura, y sobre todo con luz blanca o luz día, esto se corrobora con la literatura. (MONTOYA, 1991).

Además los investigadores (JACKSON *et al.*, 1997; y JACKSON, 1999), señala que la respuesta a la tuberización en *Solanum Tuberosum ssp. Andigena*, es una respuesta al quiebre del paso de luz roja (R) a luz roja lejana (Fr), señalando además que existen reportes que mencionan al fotoperíodo como responsable de la tuberización en plantas cultivadas *in vitro*, del mismo modo mencionan que los días largos (LD), son más favorables que los días cortos (SD), para favorecer este proceso, pero agrega que existen ciertas inconsistencia en estas aseveraciones. Señalando además que si existe una pérdida en el nivel de fitocromo B, existe una disminución en el fotoperíodismo que controla la tuberización en estas plantas.

Por consiguiente se discute que en las condiciones experimentales en que se mantuvieron las plantas de papa en este estudio, correspondió a fotoperíodos largos, y no se observó mayor incidencia de microtubérculos por este factor, ni al ser tratadas con luz roja (T₃).

4.1.4 Murta

Como se aprecia en el Cuadro 5, la variable altura, alcanzó un mayor promedio con el T₁ (luz blanca) y luz azul con promedios que fluctuaron en 1.07 y 1.11 cm para cada uno de ellos. En cambio el T₃ (luz roja) alcanzó valores inferiores en comparación a los demás tratamientos con un valor promedio de 0.45 cm. (Anexo 2.3).

El número de hojas, no manifestó diferencia significativa con los tratamientos en estudio, los valores promedios fluctuaron entre 7 para el T₁ (luz blanca), 9.85 en el T₂ (luz azul) y 6.28 para el T₃ (luz roja).

Para el número de raíces, se obtuvieron promedios mayores con el T₂ (luz azul) observándose un valor promedio de 1.85, para luz blanca y roja (T₁ T₃), manifestaron estadísticamente valores similares para cada uno de ellos.

CUADRO 5. Valores promedios del efecto de tres longitudes de onda sobre; altura (cm), número de hojas, número de raíces, longitud de raíces (cm), número de brotes, número de nudos sobre *Ugni molinae* T., cultivada *in vitro*.

VARIABLES	ALTURA	HOJA	RAIZ	LNG	BROTE	NUDOS
	cm	Nº	Nº	cm	Nº	Nº
TRATAMIENTOS						
T₁ luz blanca	1,078 ^a	7 ^a	1 ^b	2,8 ^a	1.22 ^a	3,11 ^a
T₂ luz azul	1,11 ^a	9,85 ^a	1,85 ^a	3,64 ^a	1,57 ^a	3,00 ^a
T₃ luz roja	0,45 ^b	6,28 ^a	0 ^b	0 ^a	1 ^a	0 ^b

Letras distintas en la columna indica diferencia significativa según test de Tamhane.

En el caso de la longitud de raíces, se observó que no hay diferencia significativa entre los Tratamientos, todos presentaron estadísticamente valores promedios similares entre ellos (2.8 para luz blanca, 3.64 luz azul y cero para luz roja).

El número de brotes no presentó diferencia significativa entre los tratamientos en estudio mostrando valores de 1.22, 1.57 y 1 para los tratamientos (luz blanca, luz azul y luz roja).

Para los nudos los mayores promedios se obtuvieron con los tratamientos 1 y 2, (luz blanca, luz azul), con valores de 3.11 y 3 para cada uno de ellos, en comparación al tratamiento 3 luz roja que mostró valor cero.

Estos resultados, nos demuestran que esta especie vegetal, no desarrolló un comportamiento particular al ser expuestas a las luces, además existen trabajos en que esta especie a tenido una mejor respuesta al enraizamiento, al ser cultivada con luz blanca (luz día) y sin aportes hormonales ya que en trabajos realizados por Carrasco (2003), esta especie no presentó problemas para ser enraizada.

4.1.5 Copihue

Para esta especie como se aprecia en el Cuadro 6, no hubo diferencia significativa entre los Tratamientos para ninguno de los parámetros de crecimiento evaluados (Anexo 2.4).

CUADRO 6. Valores promedios del efecto de tres longitudes de onda sobre; altura (cm), número de hojas, número de brotes y número de nudos en *Lapageria rosea* Ruiz et Pav. cultivada *in vitro*.

VARIABLES TRATAMIENTOS	ALTURA cm	HOJA Nº	BROTE Nº	NUDOS Nº
T₁ luz blanca	2,55 ^a	3,7 ^a	1,2 ^a	1,2 ^a
T₂ luz azul	2,650 ^a	4,5 ^a	1,2 ^a	1,3 ^a
T₃ luz roja	2,888 ^a	4,0 ^a	1,25 ^a	1,25 ^a

Se puede señalar a la vista de estos resultados, más otros trabajos de investigación que esta especie es difícil de trabajarla *in vitro*, por lo tanto no se obtuvieron resultados óptimos al tratar esta especie a los Tratamientos de luces, además en otros trabajos de investigación ha sido de igual modo complicado obtener resultados favorables, como lo señala (Becerra 1999, citado por Carrasco 2003), quien al tratar de enraizar *Lapageria rosea* Ruiz et Pav. *in vitro*, no obtuvo diferencia significativa en el desarrollo radical.

Además en estudios realizados por RIVAS (2002), al estudiar y analizar ciertas variables de respuestas en explantes provenientes de meristemas de copihue, cultivado *in vitro* en medio MS, suplementado con fitohormonas las variables en estudio tales como: número de brotes, número de nudos, altura en centímetros de los brotes no demostraron diferencias significativas. Aunque estos estudios en cierto modo no son comparables con el estudio presente, sirven como apoyo, para entender lo difícil que es obtener plantas de copihue bajo estas técnicas de

micropropagación, considerando además que no se utilizaron reguladores hormonales o fitohormonas para llevar a cabo el estudio.

4.1.6 Helecho

Al observar la Figura 3, podemos decir que de los Tratamientos en estudio (luz blanca, luz azul, luz roja), se favorece principalmente la germinación de las esporas con T₁ (luz blanca), con un total de 74 muestras que respondieron al proceso germinativo, representando un 59.2 % del Tratamiento.

En el caso de la luz azul, presentó la menor cantidad de muestras con esporas germinadas con un total de 29 muestras, representando un 23,2 % para ese Tratamiento. Luego con la luz roja se observaron 66 muestras con esporas germinadas, alcanzando un 43.56% para ese Tratamiento.

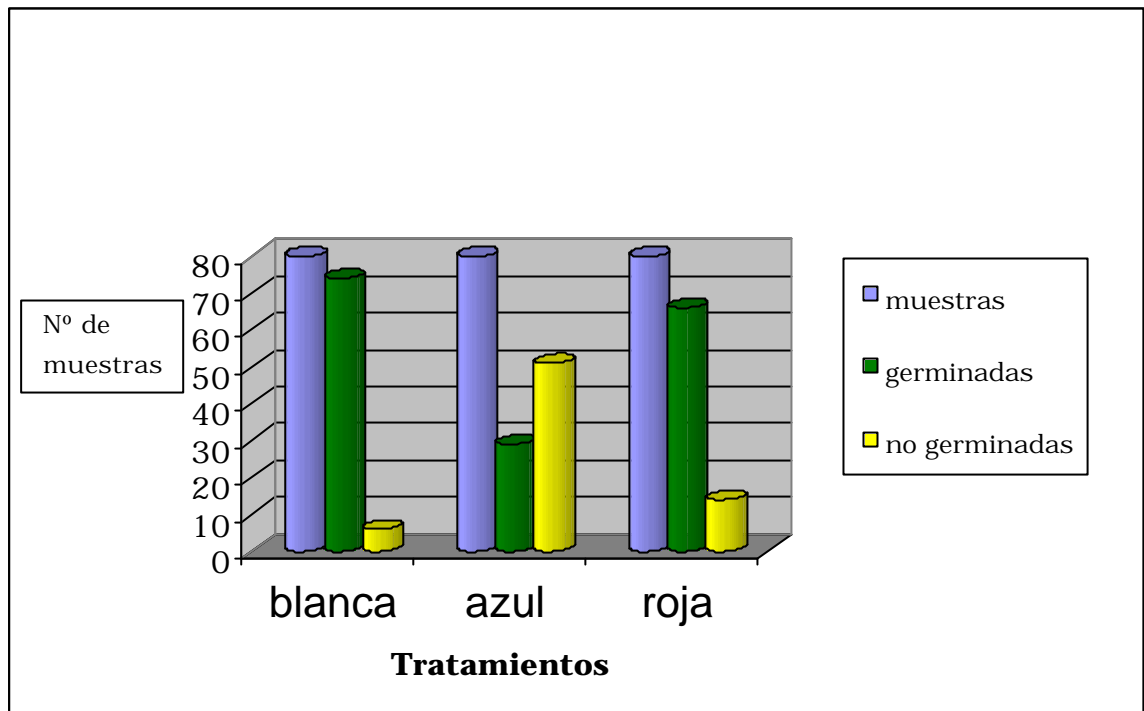


FIGURA 3. Número de muestras germinadas en esporas de *Dicksonia berteriana*, cultivada *in vitro* bajo los tres tratamientos luz blanca, azul y roja.

En cuanto a la literatura autores como BRUM y RANDI 2002, han realizado investigaciones en la germinación de esporas de *Rumora adiantiformis* (Forst). Sosteniendo que la temperatura ejerce influencia sobre el efecto de la luz en la germinación de las esporas de los helechos, sugiriendo que ambos factores alteran la permeabilidad de las membranas induciendo así la germinación.

Además HAUP (1990), citado por los mismos autores observó que el fitocromo actúa en la germinación de esporas de *Dryopteris filix - mas* L. y *Dryopteris falcata*, pero es inhibida por temperaturas desde 27 a 32°C, produciendo un desacoplamiento de la molécula de fitocromo.

Referente al período de siembra y posteriormente días de germinación de las esporas, podemos observar en la Figura 10, que las esporas tratadas con luz blanca demoraron menos días en germinar, esto ocurrió a los 6 días post siembra, en cambio para los tratamientos rojo y azul (T_2 y T_3), se observó germinación a los 12 días.

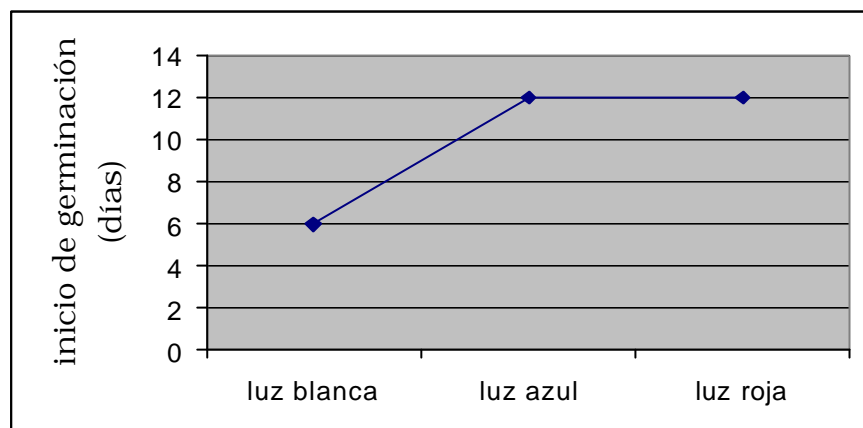


FIGURA 4. Efecto de la longitud de onda sobre el inicio de germinación en días de esporas de *Dicksonia berteriana*, cultivada *in vitro* bajo un medio MS líquido.

FILIPPINI, DUZ y RANDI (1999), investigaron el efecto continuo de la luz blanca sobre la germinación de esporas de *Dicksonia sellowiana*, además de un tratamiento con luz roja, observando que el tratamiento con luz blanca fue marcado después de 10 días de imbibición, sobre la germinación de las esporas.

En estudios realizados por PEREZ *et al.*, (s/f), con el helecho *Thyrsopteris elegans*, determinó que la germinación para esta especie era tardía ya que ocurrió a los 20- 25 días. Si comparamos estos resultados de

con lo que ocurrió en *Dicksonia Berteroana*, inferimos que esta especie posee una germinación temprana o precoz.

Existen investigaciones para el helecho *Adiantum capillus - veneris*, realizados por CHRISTENSEN *et al.*, (1998), donde la germinación de esporas haploides y la regulación de la expresión del ARNm en el fotosistema II es inducido por el fitocromo y es inhibido por la acción de la luz azul a través de los fotoreceptores, esto nos reafirma la escasa respuesta de las esporas de *Dicksonia berteroana* al tratamiento de luz azul, tanto en germinación, como posteriormente al nulo desarrollo de los prótalos.

Otros investigadores como UCHIDA y FURUYA (1997), señalan que los fitocromos y los receptores de luz azul regulan la partida de la primera mitosis en la fase S durante el primer ciclo celular de las esporas de helecho *Adiantum capillus - veneris*. Determinando que la germinación es regulada positivamente por los fitocromos y negativamente por los fotoreceptores de luz azul.

Además en investigaciones realizadas por COLLI y TAKAKI (1992), en *Thelypteris dentata* (Forsk), las esporas fueron germinadas desde 10 a 35°C, determinando el efecto de la luz blanca y luz roja lejana, sobre la germinación observando que la germinación fue más alta ha una temperatura de 25°C y con una necesidad continua de irradiación con luz blanca alcanzando un de 90% de germinación.

De acuerdo a lo anterior, no cabe duda que la luz blanca, tiene una mejor respuesta sobre la germinación de esporas, lo cual se observó con los trabajos experimentales de esta investigación.

En la Figura 5 podemos apreciar el diámetro en milímetros que desarrollaron los prótalos, luego de haber germinado las esporas, donde el mayor diámetro corresponde a los tratados con luz blanca con un valor promedio de 2,2 mm y luego la luz roja con un valor promedio de 1 mm de diámetro. En el caso de la luz azul, se observó que hubo un efecto negativo sobre el desarrollo del prótalo, ya que no manifestaron una respuesta de crecimiento.

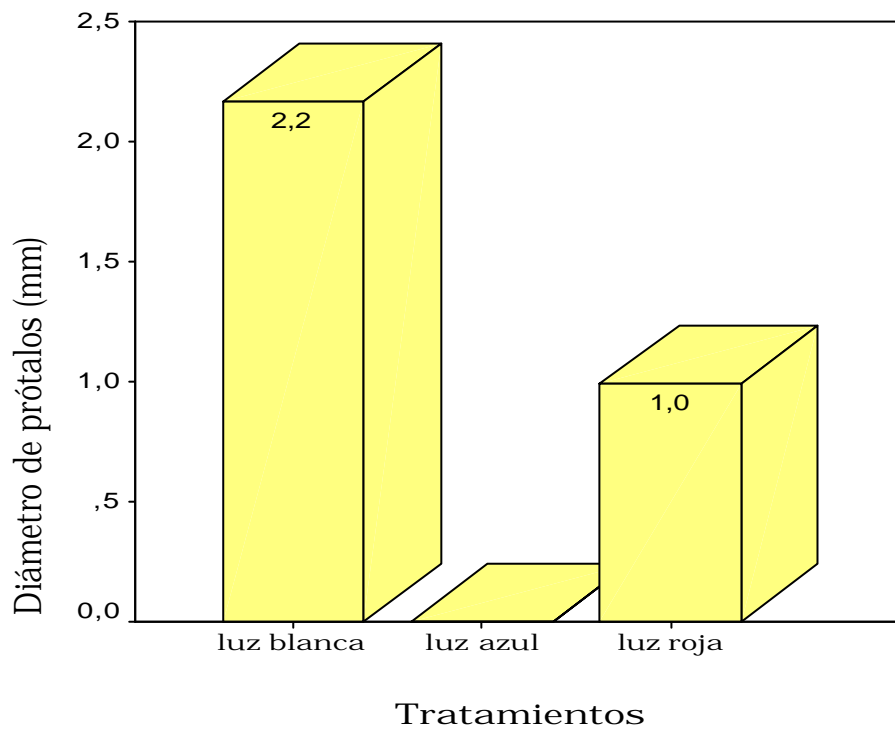


FIGURA 5. Efecto de la longitud de onda sobre el diámetro de prótalo en milímetros (mm) en *Dicksonia berteriana* cultivada *in vitro*, en medio MS líquido.

KAGAWA y WADA (1999), estudiaron la respuesta de los movimientos de los cloroplastos de células protálicas del helecho *Adiantum capillus veneris* inducidos por altas y bajas afluencias de luz azul,

determinando que, tanto las altas y bajas afluencias anulan las respuestas de los cloroplastos en las células protálicas de estos helechos.

Al observar el Cuadro 7, el parámetro evaluado en *Dicksonia berteriana*, que corresponde al diámetro del prótalo medido en milímetro (mm), los resultados mostraron que no existe diferencia significativa entre los tratamientos evaluados (luz blanca, y luz roja), obteniéndose valores promedios de 3.22 mm y 2.01mm para ambos tratamientos. Mostrando los prótalos un desarrollo en forma acorazonada y el desarrollo de pequeños rizoides. Observar los (Anexo 2.5 y Anexo 2.5.1).

CUADRO 7. Valores promedios del efecto de dos longitudes de onda sobre el parámetro de crecimiento diámetro de prótalo medido en milímetros de *Dicksonia berteriana*, cultivada *in vitro* en medio MS líquido.

VARIABLES	DIÁMETRO PRÓTALO
TRATAMIENTOS	mm
T₁ Luz blanca	3.224
T₃ Luz rojo	2.010

IV CONCLUSIONES

A la luz de los resultados, podemos decir que en la multiplicación *in vitro* de las especies estudiadas, bajo las condiciones de los tratamientos de tres longitudes de onda blanca, azul y roja, las mejores respuestas a las variables estudiadas correspondió a la luz roja (T₃) y la luz blanca (T₁), sin embargo algunas especies manifestaron respuestas singulares hacia la luz azul (T₂). Por lo tanto en el estudio queda demostrado que:

- ✗ ✗ Al utilizar luz roja se estimula el vástago de especies vegetales, tales como begonias, dalias y papas, entendiendo esto como el crecimiento aéreo (número de nudos, número de hojas), además en papa el número de raíces se incremento con este Tratamiento, aún así la luz roja no es recomendable para el crecimiento aéreo de esta especie, pero si para las especies anteriormente señaladas.
- ✗ ✗ La luz azul estimuló la rizogénesis de especies como *Begonia rex*, *Ugni molinae* T., y el desarrollo de microtubérculos en *Solanum tuberosum* L. junto a la presencia de callo en *Dahlia spp*. Por lo tanto la luz azul seria una alternativa favorable para el crecimiento radical de las especies señaldas.
- ✗ ✗ En la presencia de callo en *Dahlia spp* se observó un 16.8% de callo para la luz blanca, y un total de 33.6% para los tres Tratamientos (luz blanca , azul y roja). Sin embargo la ausencia de callo arrojó un total

de 66,4 % para los tres tratamientos. Por lo tanto la mayoría de los explantes para esta especie presentaron una organogénesis de tipo directa.

- ✘ ✘ Para el caso del copihue, los análisis estadísticos, concluyeron que no hay diferencias significativas entre los tratamientos utilizados (luz blanca, azul y roja), por lo tanto esta especie necesita otras condiciones tanto físicas y químicas para responder a la micropropagación.
- ✘ ✘ En el helecho *Dicksonia berteroana* no se observaron diferencias significativas entre los Tratamientos, pero experimentalmente, se observó que los prótalos crecieron en forma homogénea con buen color y sin contaminación, presentando prótalos de mayor diámetro con la luz blanca. (T₁). Además con la luz blanca hubo un mayor número de muestras germinadas. Por lo tanto la luz blanca es la más indicada para ser utilizada en la micropropagación de esta especie.
- ✘ ✘ Las esporas de *Dicksonia berteroana* poseen una germinación temprana o precoz, en comparación a otras especies de helechos, presentando una germinación a los 6 días post siembra con luz blanca y 12 días con luz roja. Por lo tanto ambos tratamientos son favorables para el proceso de germinación.
- ✘ ✘ La luz azul no sirve para la germinación, ya que provocó una fotoinhibición de las esporas y exterminio, por lo tanto este tratamiento no es factible ser utilizado para el helecho *Dicksonia berteroana*.

VI LITERATURA CITADA

- ACEVES., J. HERNÁNDEZ., J. (s/f). Propagación comercial de plantas ornamentales por cultivo *in vitro* de tejidos vegetales para beneficio social de la comunidad. (En línea). Disponible en. <<http://www.uv.mx/iiesca/revista2/aceves2.htm>>. Fecha consulta (2002, Abril, 15).
- AHUJA., M.R. 1993. Micropropagation of Woody Plants. *In vitro* response of Conifer to light. 507p.
- ALBA., M. 1977. Estudios sobre algunos aspectos de producción e industrialización de murta. Proyecto desarrollo sector costa, Osorno. FNDR. 30p
- APHOLO., P. 2001. Light signals and the growth and development of plants- a gentle introduction. (En línea). University of Joensuu, Joensuu, Finland. Disponible en. <<http://www.cc.joensuu.fi/photobio/mrainbov.html>>. Fecha Consulta (2002, mayo 2).
- BACH., A. MALIK., M. PTAK., A. y KEDRA., M. 2000. Light effects on ornamental microplant shoots and bulbs quality. Acta Hort. (ISHS)530:173180. (En línea). Disponible en. <http://www.actahort.org/books/530/530_19.htm>. Fecha de consulta (2004, Enero 6).

- BALDINI., E. 1992. Arboricultura general. Escuela de ingeniería técnica Agrícola. Universidad Politécnica de Madrid. Ediciones mundi-Prensa. Castelló 357 p.
- BÁRCENA., H. ROBREDO., P. QUIROGA., M. y ECHAZÚ., R. (s/f). Cámara de cultivo para ensayo de materiales de cubierta de invernaderos. (En línea). Universidad nacional de Salta Argentina. Disponible en.<<http://www./mail.inenco.net/asadedit/avermas/avermas3/02-29.pdf>>. Fecha de consulta (2003 Octubre 20).
- BENAVIDES., A. y RAMÍREZ., H. 2002. Respuesta de las planta a la radiación electromagnética. (En línea). Departamento de horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Disponible en.<<http://dradalbertobenavides.com/arti/luzfisio.htm>>. Fecha de consulta. (2003 Noviembre 6).
- BENAVIDES., ADALBERTO. (s/f). Asimilación de CO₂ en lechuga bajo películas fotocromáticas fotoselectivas. (En línea). Disponible en. <<http://www.dradalbertobenavides.com/lechuasn.htm>>. Fecha de consulta (2003, Octubre 20).
- BIANCHINI., F. y CARRARA., A. 1975. Guía de plantas y flores. Editorial Grijalbo.
- BUSTAMANTE., J. MERY., L. SANHUEZA., E. ZÁRATE., E. y PINTO., H.1995. Requerimientos de clima y suelo: Chacras y Hortalizas . CIREN N° 107. 195P.

- BRUSSA., C. y GRELA., I. 1999. Helechos del Uruguay. (En línea). Disponible en. <<http://www.mundomadero.com/florayfauna/helechos.htm>>. Fecha de consulta (2003, Noviembre 21).
- BRUM., F. y RANDI., A. 2002. High irradiance and temperature inhibit the germination of spores of the fern *Rumohra adiantiformis* (Forst.) Ching (Dryopteridaceae). *Revista Brasil.Bot.* 25(4):391-392.
- CAMPOS., J. 1998. Productos forestales no madereros en Chile. (En línea). Disponible en. < <http://www.rlc.fao.org/prior/recnat/pdt/sfor10.pdf>. > Fecha de consulta (2004 Abril 17).
- CANTÓN., FRANCISCO. (s/f). PIF3:Una novia para cinco hermanos. (En línea). Disponible en.<<http://www.uma.es/estudios/centros/ciencias/publicaciones/encuentros/encuentros62/pif.htm>>. Fecha de consulta (2004, Enero 6).
- CARRASCO., I. 2003. Multiplicación y enraizamiento de *Ugni molinae* Turz, cultivada *in vitro*. Tesis profesional para obtener el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Católica de Temuco. 80p.
- COLLI., AMT. y TAKAKI., M. 1992. Studies on spore germination in *Thelypteris dentata* (Forsk) E. St. John. *Arquivos -de- Biología - e- Tecnología* 35(2):585-590.

- CHRISTENSEN., S. TOKUOKA., Y. SILVERTHORNE., J. y WADA., M. 1998. Phytochrome regulation of expression of mRNA encoding the major light- harvesting proteins of Photosystem II in the haploid- *veneris*. *Plant and Cell Physiology* 39(6):647-654.
- CHORY., J. WEIGEL., D. 2002. Se aclara la adaptación de las plantas a la luz. (En línea). Disponible en. <<http://www.hhmi.org/news/chory4-esp.htm>>. Fecha de consulta (2002, Marzo 27).
- DONOSO., C. y RAMÍREZ., C. 1994. Arbustos nativos de Chile. Guía de reconocimiento segunda edición. Vol.2. Ediciones Marisa Cúneo. 119p.
- ECONOMOU., S. A. y READ., P. 1987. Light treatments to improve efficiency of *in vitro* propagation systems. *Hortscience*. 22.(5).751-753.
- ESCOBAR., VALERY. (2000). La iluminación (En línea). Disponible en. <<http://www.laatlantida.com/5artic/plantas/iluminación.htm>>. Fecha de consulta (2003, Agosto 6).
- FILIPPINI., ELAINE CRISTINA DE PAULA. DUZ., SONIA. REGINA., y RANDI., ÁUREA MARIA. 1999. Light and storage on the germination of spores of *Dicksonia sellowiana* (Presl.) Hook., *Dicksoniaceae*. (En línea). Disponible en. <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid>. Fecha de consulta (2002 Enero 15)

- FURUYA., M. KANNO., M. OKAMOTO., H. FUKUNDA., S. y WADA., M. 1997. Control of mitosis by phytochrome and a blue- light receptor in fern spores. *Plant Physiology* 113 (3):677-683.
- GARCÍA., JAVIER. y BOIX., ORIEL. 2000. Magnitudes y Unidades de medida.(En línea).Universidad Politécnica de Cataluña.Disponible en. <http://www.edison.upc.es/curs/ilum/luz_vision/luz.html> Fecha de consulta (2002, Mayo 2).
- GUNKEL., HUGO. 1984. Helechos de Chile. Ediciones de la Universidad de Chile 200p.
- HEREDIA., M. y FERNÁNDEZ., J. (s/f). Papel del Ca²⁺ en la apertura y cierre de los estomas (En línea.). Disponible en.<<http://www.ciencias.uma.es/publicaciones/encuentros/encuentros3e/calcio.htm>>. Fecha de consulta (2003, Noviembre 20)
- HENRIQUEZ., C. SIMONETTI., J. y BUSTAMANTE., R. IX Reunión anual sociedaddeecología de Chile.(En línea).Disponible en.<http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071697602000000100011&ing=es&nrm=iso>. Fecha de consulta (2004, Abril 15).
- HOOKER., W.J. 1980. Compendio de enfermedades de la papa. Centro internacional de la papa. CIP. Lima Perú. 152p.

- INFOAGRO.2003. El cultivo de los helechos. (En línea). Disponible en.<
[http://www.infoagro.com/flores/plantas_ornamentales/helechos.
htm](http://www.infoagro.com/flores/plantas_ornamentales/helechos.htm)>. Fecha de consulta (2003, Diciembre 14).
- INFOAGRO.2002. El cultivo de la begonia. (En línea).Disponible en.<
<http://www.infoagro.com/flores/flores/begonias.asp.htm>>.
Fecha de consulta (2002, Mayo 12).
- INFOAGRO.2002. El cultivo de la dalia. (En línea).Disponible en. < [http://www.infoagro.com /flores/flores/dalia.htm](http://www.infoagro.com/flores/flores/dalia.htm)>.Fecha de consulta
(2002, Abril 22).
- JACKSON., S.D.1999. Multiple signaling pathways control tuber induction
in potato.PlantPhysiol.(En línea).Disponible en.<[http://www.pla
ntphysiol.org/cgi/content/full/119/1/1](http://www.plantphysiol.org/cgi/content/full/119/1/1)>.Fecha de consulta
(2004 Marzo 8).
- JACKSON., S.D. PRAT., S. y THOMAS., B. 1997. Regulation of tuber
induction in potato by daylength and phytochrome. ActaHort.
(ISHS) 530:173180.(En línea).Disponible en.<[http://www.actaho
rt.org/books/435/435_15.htm](http://www.actahort.org/books/435/435_15.htm)>. Fecha consulta (Enero 15 2004).
- JARRILLO., J. CAPEL., J. HANG TANG., R. QUAN YANG., H. ALONSO., J.
ECKER., J. y CASHMORE., A. 2001 Phytocrome: Light Regulate
Plant Growth and Development. (En línea). Disponible en<[http://:www.nobat.org/jwcross/duckweed/phytochrome.htm](http://www.nobat.org/jwcross/duckweed/phytochrome.htm)>.
Fecha de consulta (2004 Enero 13).

- KAGAWA,T., y WADA., M. 2002. Blue light- induced chloroplast relocation. *Plant cell physiol.* 43(4):367-371.
- KAGAWA., T. y WADA., M. Chloroplast Avoidance response induced by high - fluence blue light in prothallial cell of the fern *Adiantum capillus- veneris* as analyzed by microbeam irradiation. *Plant Physiology.*119: 917-923.
- KRIKORIAN A. D. 1991. Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación. En "Cultivo de tejidos en la agricultura fundamentos y aplicaciones. 1991 WILLIAMS M, ROCA y LUIS A. MROGINSKI. Editor centro internacional de Agricultura tropical CIAT.
- LASZLO CARLOS. (s/f) Lighting Design (En línea). Disponible en. <<http://www.laszlo.com.ar/manual212325.htm#3>>. Fecha de consulta (2002, Noviembre 15).
- LAVIN., A. MUÑOZ., C. 1988. Prospección de murtas (*Ugni molinae* T.) mediante estacas apicales semileñosas. *Agricultura técnica (Chile)* 48 (1): 58- 59.
- LEGNANI., G. y MILLER., W. 2000.Night interruption lighting is beneficial in the production of plugs dahlia "sunny rose". *Hortscience* 35(7): 1244-1246.
- LEGNANI., G. y MILLER., W. (s/f). Remember to leave the lights on for your Dahlia plugs. (En línea). Disponible en. <http://www.clenson.edu/hort/sctop/pdf_docs/bsec_12.pdf____Fecha consulta (2004, Enero 15).

- LITZ., R.E y JANET., R.L.1991. Regeneración de plantas en el cultivo de Tejidos embriogénesis somática y organogénesis. En ROCA, WILLIAN y MROGINSKI, LUIS. Cultivo de tejidos en la agricultura. Cali Colombia, Centro internacional de la agricultura tropical.
- LUENGO., LOURDES. (s/f). Fotosíntesis. (En línea). Disponible en.<<http://www.arrakis.es/^lluengo/fotosintesis.htm>>. Fecha consulta (2003, Noviembre 12).
- MAROTO., B. 1989. Horticultura para aficionados. Ediciones mundi prensa Madrid. 343.p
- MARTÍNEZ., J. MONTE., E. y RUIZ., F. (sin fecha). Fitocromo y desarrollo vegetal. (En línea). Disponible en.<http://www.bmbq.uma.es/fmp/pdfs/canton_sciamer.pdf>. Fecha consulta (2004, Enero 15).
- MILLER., E. 1967. Fisiología vegetal. Centro regional de ayuda técnica Agencia para el desarrollo internacional México. 367p.
- MIYASHITA., Y. KITAYA., Y. KOZAI., T. y KIMURA., T. ZIMMERMAN., RH. 1994 Effects of red and far-red light on the growth and morfology of potato plantles *in vitro*: Using Light emitting diode as a light source for micropropagation (Abstract).
- MIYASHITA., Y. KITAYA., Y. KOZAI., T. y KIMURA., T.1997. Effects of red and far-red light on the growth and morfology of potato plantles *in vitro*: Using Light emitting diode as a light source for

- micropropagation. ActaHort.(ISHS) 393:189-194.(En línea). Disponible en.<http://www.actahort.org/books/393/393_22.htm >. Fecha de consulta (2004 Enero 15).
- MONTOYA., H. y MARINA., L. 1991. Cultivo de tejidos vegetales. Universidad Nacional de Colombia Seccional Medellín. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Agronomía.
- MUÑOZ., M. y MOREIRA., A. 2000. Géneros Endémicos monocotiledóneas Chile.(En línea).Disponible en.<<http://www.mnhn.cl/apuntes/botanica/lepageriagen>>. Fecha de consulta (2004 Marzo 5).
- OKAMOTO., H. SILVERTHORNE., J. y WADA., M. 1997.Spatial patterns of phytochrome expresión in young leaves of the fern *Adiantum Capillus - veneris*. Plant and Cell Physiology 38(12):1397-1402 .
- PASTENES., C. (s/f). Laboratorio fisiología del estrés en plantas. Fitocromos y fotomorfogénesis. Universidad de Chile. (En línea). Disponible en.<<http://www.agronomía.Uchile.cl/webcursos/fisiologíavegetal/down/fitocromos.pdf>>. Fecha de consulta (2004 Enero 13).
- PARSONS., David. 1987.papas. Ediciones trillas México. Volumen 17. 271p.
- PELACHO., A. MARTÍN., L. CUEVA., R. SANFELIRE., J. BADÍA., J. y ALINS G. 2002. Cultivo *in vitro* (En línea). Escuela técnica superior de ingeniería agrícola de Lleida.Disponible en.<<http://>

[www.etsea2.udl.es/in vitro/luz](http://www.etsea2.udl.es/in_vitro/luz)> . Fecha de consulta (2002 Julio 2).

PEREZ., B. MENDOZAL., A. RIBAL., R. y RICCI., M. (s/f) Morfogénesis del gametófito del helecho *Thyrsopteris elegans* (Filicales:Thyrsopteridaceae). Universidad Autónoma Metropolitana México. (En línea). Disponible en.<<http://www.ots.duke.edu/tropibiojnl/claris/443y451/perez.htm> >. Fecha de consulta (2002, agosto, 12).

PIERIK, R.1990. Cultivo *in vitro* de las plantas superiores. Editorial Mundi - Prensa. 325 p.

PROCOBRE MÉXICO. y PROCOBRE CHILE. 2003. Iluminación artificial. (En línea). Disponible en.<http://www.jaguarstudio.com.mx/procobre/biblio/acrobat/Unidad_8.pdf>. Fecha consulta (2003 Octubre 26).

RAISMAN., J. GONZÁLES., A. y AGUIRRE., M. (1999). Fotosíntesis naturaleza de la luz. (En línea). Disponible en.<<http://www.whf.whfreeman.com/life/update/fai.unne.edu.ar/biología/planta/fosint.htm> . Fecha de consulta (2002 Mayo 15).

RIVAS., JESSICA. 2002. Establecimiento, multiplicación y Elongación *in vitro* de diferentes cultivares de copihue (*Lapageria rosea* Ruiz *et* Pav.). Tesis Ingeniero Agrónomo Universidad de la Frontera. 88p.

- ROCA., W. y MROGINSKI., I. 1991. Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales *in vitro*. En: Centro internacional de agricultura Tropical. cultivos de tejidos en la agricultura. fundamentos y aplicaciones. Colombia pp 19-40.
- RODRÍGUEZ ., M. Y CARRILLO., R. 2003.Efecto de la temperatura y tiempo de almacenaje de esporas sobre la germinación de helechos nativos presentes en el Sur de Chile. En: IV Simposio de recursos genético para América Latina y el Caribe. 10 al 14 de Noviembre de 2003 Mar del Plata, república Argentina.
- SALAS., M. VERA., M. y BERTÍN., J. 2002. Copihue Características productivas y de propagación. Revista Agroanálisis. Edición Nº 192 Agosto.
- SALISBURY., F. y ROSS., C. 1994. Fisiología vegetal. Grupo Editorial Iberoamericana S.A. México.759 p
- SALMERON., J. 1996. Las flores y su cultivo. Edita ministerio de agricultura, pesca y Alimentación .España 507p.
- SANTA CRUZ., M.C y QUEZADA., J.A. Evaluación de la respuesta de la *Begonia rex*, a la variación de medios y reguladores de crecimiento en técnicas de cultivo de hojas *in vitro*. (En línea). Disponible en.<http://www.redbio.org/portal/encuentros/enc_2001/posters/01/posterpdf/01-031/begonia.> .Fecha de consulta (2004 Enero 15)

- SEEMAN, P.1993. Utilización de técnicas de micropropagación: En Barriga, P y Neira, M. Cultivos no tradicionales. Avances en producción y sanidad vegetal. Universidad Austral de Chile. pp. 87-145.
- SEEMANN., P. y ANDRADE., N.1999. Cultivo y manejo de plantas bulbosas ornamentales. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Instituto de Producción y Sanidad Vegetal. 221p.
- SEGUEL., I. y AVENDAÑO L. 2001. Aprovechando lo nuestro murta: Fruto nativo de alta perspectiva comercial. Revista Sofo campo año 4 N° 32 .
- SEGUEL., I 2003. Conociendo la murtilla. (En línea). Disponible en.<http://www.bioplanet.net/magazine/bio_2003_2003_mayjun_proyecto.htm>. Fecha de consulta (2004 Abril 20).
- TACÓN., A. 2004. Manual de productos forestales no madereros. (En línea). Disponible en.<<http://www.Cipma.cl/gef/publicaciones/documentos%20apoyo%20app/pfnm%20pf.pdf>>. Fecha de consulta (2004 Abril 17).
- TANIMOTO., H. y KAGI., T. 1994. Effect Of Supporting Materials On The Growth And Regeneration Of Begonia X Hiemalis Cultured in vitro. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science. 62 (4).

- TORRES., A. SEGUEL., I. CONTRERAS.,G. y CASTRO., M.
 Caracterización Físico -química de frutos de murta (Murtilla) *Ugni
 molinae* Turcz. Agricultura técnica (Chile) 59 (4):260- 270
 Octubre- Diciembre, 1999).
- TORRES., JUAN. (s/f) Especies con usos no maderables en bosques de
 encino, pino y pino- encino. (En línea). Disponible en. <
[http://www.148.233.168.204/ptnm/Dahlia
 coccinea.html](http://www.148.233.168.204/ptnm/Dahlia_coccinea.html) >
- TLALKA., M. RUNQUIST., M. y FRICKER., M. 1999. Light perception and
 the role of the xanthophyll cycle in blue- light - dependent
 chloroplast movements in *Lemna trisulca* L. The Plant Journal
 20 (4):247-459.
- UCHIDA., K. FURUYA., M. 1997. Control of the entry into S phase by
 phytochrome and Blue light receptor in the first cell cycle of fern
 spores. Plant and Cell Physiology 38(9): 1075-1079.
- VEGA., F. (s/f). Determinación cuantitativa de las clorofilas. (En
 línea). Disponible en.[http://<www.monografias.com/trabajos10/
 clorofa/clorofa.shtml](http://www.monografias.com/trabajos10/clorofa/clorofa.shtml)>. Fecha consulta (2004 Enero 13).
- VEGA., M. (2003). La murta tiene cualidades para la vejez y la celulitis..
 Artículo extraído de " El Llanquihue". (En línea). Disponible en.
- VILLALOBOS., V. y THORPE., T. 1991. Micropropagación :conceptos,
 metodología y resultados. En: Centro Internacional de Agricultura
 Tropical. Cultivos de tejidos en la agricultura. Fundamentos y
 aplicaciones. Colombia. pp 128-141.

VILLERGOS., M. 1997. Catálogo general. Lámparas y Pilas. PHILIPS. Ibérica Alumbrado, S.A. Madrid.150p.

YANAGI., T. y OKAMOTO., K. 1997. Utilization of super - bright light emitting diodes as an artificial light sources for plant growth. Acta.Hort.(ISHS)418.22322288(En línea). Disponible en.<http://www.actahort.org./books/418/418_29.htm >. Fecha consulta (2004 Marzo 8).

VII RESUMEN

Este estudio fue realizado en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos de la Universidad Católica de Temuco, durante Marzo 2002 hasta Abril del 2003, donde se realizó el trabajo experimental.

En la presente investigación se evaluó el efecto de la longitud de onda sobre parámetros de crecimiento en seis especies vegetales cultivadas *in vitro*, tales como altura (cm), número de hojas, número de raíces, longitud de raíces (cm), número de brotes, número de nudos. Además se evaluó el ¹ Enraizamiento en dalia, papa, begonia, murta y copihue; ² Diámetro de prótalos en *Dicksonia berteriana*, junto al efecto de los Tratamientos sobre la germinación; ³ Crecimiento aéreo de las especies vegetales como dalia, papa, begonia, murta y copihue; ⁴ Presencia del desarrollo de microtubérculos en papa y presencia de callo en dalias.

Las especies estudiadas fueron (*Begonia rex.*, *Dahlia spp.*, *Solanum tuberosum* L., *Ugni molinae* T., *Lapageria rosea* Ruiz et Pav., y *Dicksonia berteriana*). Estas especies crecieron *in vitro* sobre un medio MS libre de hormona, suplementado con 3% Sacarosa, a una temperatura de 24°C, fotoperíodo de 16 hrs luz y 2500 lux de intensidad lumínica. Los Tratamientos correspondieron a tres longitudes de onda, **T₁** luz día, **T₂** luz azul y **T₃** luz roja.

La luz se proporcionó, por medio de lámparas fluorescentes marca Philips modelo TLD/830, TLD/18 de 36 W, y ampolleta PAR 38 Philips de 80 W, para la luz día, azul y roja respectivamente.

Los datos fueron analizados por el programa estadístico SPSS versión 10.0 y Excel para Windows (Microsoft). Para el análisis estadístico los datos en que no existía Normalidad y homogeneidad de varianza fueron sometidos a una transformación de datos, para luego realizar pruebas de comparación múltiple Test de Tukey ($p > 0.05$) y pruebas no paramétricas en los casos donde no se pudo homogenizar las varianzas, utilizando Kruskal y Wallis, y para ver diferencias se utilizó la prueba de Tamhane con un nivel de significancia del 5%. Los ensayos se establecieron con un diseño completamente aleatorizado (CA).

Las especies que más respondieron a los Tratamientos fueron *Begonia rex*, *Solanum tuberosum* L. *Ugni molinae* T. y *Dahlia spp*, en cambio en *Lapageria rosea* Ruiz et Pav. no se encontraron diferencias significativas.

La luz azul promovió, la rizogénesis de *Begonia rex*, *Ugni molinae* T., y estimuló el desarrollo de microtubérculos de *Solanum tuberosum* L. Para el caso del helecho arborescente *Dicksonia berterona*, la luz azul causó la muerte de las esporas después de 30 días de cultivo y no hubo desarrollo de las células prótalicas.

La luz roja estimuló el desarrollo aéreo de *Dahlia spp.*, *Solanum tuberosum* L. y *Begonia rex.*, incrementando el número de hojas, número de nudos y altura en centímetros.

La ausencia de callo en *Dahlia spp* se observó en un 66.4 %, por lo tanto los explantes presentaron una organogénesis directa en los tres tratamientos.

En general la luz blanca es la más apropiada para la micropropagación de las especies, especialmente en *Dicksonia berteriana*, la luz roja estimula el crecimiento de los vástagos aéreos y la luz azul promueve la rizogénesis.

SUMMARY

This study was made in the Laboratory of Cultivation of Tissue of the Catholic University of Temuco, during March 2002 until April of the 2003, where was carried out the experimental work.

In the present investigation the effect of the wavelength was evaluated it has more than enough parameters of growth in six vegetable species cultivated *in vitro*, such as: height (cm), number of leaves, number of roots, length of roots (cm), number of buds, number of nodos. Besides was evaluated the ¹ Enraizamiento in dalia, potato, begonia, murta and copihue; ² Ptothallium diameter in *Dicksonia berteriana*, next to the effect of the Treatments on the germination; ³ Air growth of the vegetable species as dalia, potato, begonia, murta and copihue; ⁴ witnesses of the microtuber development in potato and witnesses of callus in dalias.

The studied species were (*Begonia rex.*, *Dahlias spp.*, *Solanum tuberosum* L., *Ugni molinae* T., *Lapageria rosea* Ruiz et Pav., and *Dicksonia berteriana*). These species grew *in vitro* on a half MS free of hormone, supplemented with 3% Sucrose, to a light intensity. The Treatments corresponded to three wavelength, **T₁** light day, **T₂** blue light and **T₃** red light.

The light was provided, by means of fluorescent lamps model Philips marks TLD/830, TLD/18 of 36 W, and PAR ampoule 38 Philips of 80 W, for the light day and red respectively.

The data were analyzed by the statistical program SPSS version 10.0 and Excel for Windows (Microsoft). For the statistical analysis the data in that it didn't exist Normality and Homogeneity of variances were subjected to a transformation of data, stops then to carry out tests of Multiple Comparison Test of Tukey ($p > 0.05$) and you not prove parametric in the cases where you could not homogenize the variances, using Kruskal and Wallis, and to see differences the test of Tamhane it was used with a level of signification of 5%. The rehearsals settled down with a totally randomized design (CA).

The species that more they responded to the Treatments they were *Begonia rex*, *Solanum tuberosum* L., *Ugni molinae* T. and *Dahlia spp.*, on the other hand in *Lapageria rosea* Ruiz et Pav. they were not significant differences.

The blue light promoted, the rhizogenesis of *Begonia rex*, *Ugni molinae* T., and it stimulated the development of microtuber of *Solanum tuberosum* L. For the case of the arborescent fern *Dicksonia berteriana*, the blue light caused the death of the spores after 30 days of cultivation and there was not development of the cells prothallium.

The red light stimulated the air development of *Dahlia spp.*, *Solanum tuberosum* L., and *Begonia rex*, increasing the number of leaves number of knots and height in centimeters.

The callus absence in *Dahlia* spp was observed in 66.4%, therefore those explants presented a direct organogenesis in the three Treatments.

In general the white light is the most appropriate for the micropropagación of the species, especially in *Dicksonia berteroana*, the red light stimulates the growth of the air offsprings and the blue light promotes the rhizogenesis.

VIII ANEXO

