

EFECTO DE LA FUENTE DE LUZ SOBRE LA MICROPROPAGACIÓN DE PLANTAS DE ORÉGANO MEXICANO (*Lippia graveolens*)

Effect of light sources on the micropropagation of mexican origanum (*Lippia graveolens*)

Sánchez-Velázquez Emmanuel, Rodríguez-Sahagún Araceli, Acevedo-Hernández Gustavo J., Aarland Rayn C. y Castellanos-Hernández Osvaldo A.*

Laboratorio de Biología Molecular Vegetal. Centro Universitario de la Ciénega, Av Universidad 1115., Col. Lindavista 47820, Ocotlán, Jalisco, México.

*Autor para correspondencia: ocnoscr@gmail.com

Resumen

El uso de diferentes fuentes de luz en la micropropagación de especies vegetales se ha estudiado desde la década de los 70's. En la actualidad, se realizan estudios no solo para aumentar la producción, si no para disminuir en gran medida la demanda energética de las lámparas que son usadas para tal propósito. En el presente trabajo se utilizaron cuatro fuentes de luz con diferentes longitudes de onda para probar la respuesta morfológica y fitoquímica de plantas de orégano mexicano. Se probó la

luz de amplio espectro, luz roja, luz azul y luz LED. Los resultados encontraron, permitieron encontrar una respuesta similar para la producción de yemas axilares y hojas con el uso de luz amplio espectro y luz LED. Por otra parte, los principales pigmentos fotosintéticos (clorofila a y b y carotenoides) se producen también de manera similar cuando se propaga esta planta bajo luz amplio espectro y luz LED.

Palabras clave: Micropropagación, yemas axilares, luz LED

Abstract

The use of different light sources in the micropropagation of plant species has been studied since the 1970s. At present, studies are being carried out not only to increase production, but to greatly reduce the energy demand of the lamps that are used for this purpose. In the present work, light sources with different wavelengths in fluorescent lamps and LED light were used to test the morphological and phytochemical response of Mexican origanum plants. A similar

response was obtained regarding the production of axillary buds and leaves with the use of broad spectrum light and LED light. On the other hand, the main photosynthetic pigments (chlorophyll a and b and carotenoids) are also produced in a similar way when this plant is propagated under broad spectrum light and LED light.

Key words: Micropropagation, axillary buds, LED light.

Introducción

El orégano (*Lippia graveolens* L.), es una planta originaria de México, conocida con varios nombres como orégano del cerro, orégano cimarrón, orégano silvestre y orégano mexicano. Las plantas de las diferentes familias de orégano mexicano se encuentran en estado silvestre en regiones áridas y semiáridas de al menos 24 estados de la república (López-Villafranco y col., 2017). Sus principales hábitats están generalmente en suelos pedregosos de cerros, laderas o cañadas, entre los 400 y 2000 metros de altitud, aunque se encuentra en mayor abundancia entre los 1400 y los 1800 metros de altitud (CONABIO, 2005).

La luz, además de ser una fuente indispensable de energía para la fotosíntesis, es también un factor importante para el crecimiento y desarrollo de plantas (Ding y col., 2010). Las plantas son capaces de responder a la intensidad y al color de la luz por medio de sus fotorreceptores: fitocromos, criptocromos y fototropinas, los cuales se activan bajo longitudes de onda específicas (Liu, 2012) haciendo ajustes precisos en su desarrollo y crecimiento con respecto a las distintas condiciones ambientales. Debido a ello, los sistemas de iluminación para la producción en ambiente controlado son de suma importancia (Zhang y Folta, 2012).

La luz LED (*light emitting diode*) se ha convertido en una alternativa para el cultivo de plantas por las ventajas que este sistema de iluminación ofrece. Las principales ventajas son el control de la composición espectral, producción de altos niveles de luz con un índice de

radiación calorífica bajo y una larga vida útil que les permite mantenerse trabajando por años sin necesidad de reemplazo (Xu y col., 2012; Gupta y Jatothu, 2013). Es bien conocido que la luz roja y azul son factores importantes para el crecimiento de las plantas; los fitocromos tienen sus picos de sensibilidad en la región roja (660 nm) e infrarroja (730 nm). Entre las respuestas fisiológicas que provocan, están la expansión de la hoja, elongación del tallo, germinación de semilla y la inducción de la floración (Pinho y col., 2012). Por lo que en el presente trabajo se evaluó el efecto de cuatro diferentes tipos de luz: luz LED, luz de amplio espectro, luz Azul y luz Roja, sobre la producción de clorofilas, número de raíces y número de hojas en plantas de orégano mexicano (*Lippia graveolens*).

Materiales y métodos

Para la obtención del material vegetal, se realizó una micropropagación por activación de yemas axilares de plantas de *Lippia graveolens* en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) al 100% adicionado con 2.5 mg/L de Benciladenina (BA) y suplementado con 3% de sacarosa, agar al 0.7% (w/v) pH de 5.7, e incubados a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ con 16/8 h luz/oscuridad para el desarrollo de la plántula. Las plantas seleccionadas se sometieron a los distintos tratamientos en todos los casos se realizó un diseño unifactorial con n=8 Niveles de factor: LED (Luz blanca), Luz de Amplio Espectro, Luz Azul y Luz Roja. Los espectros de cada tratamiento se muestran en la Figura 1.

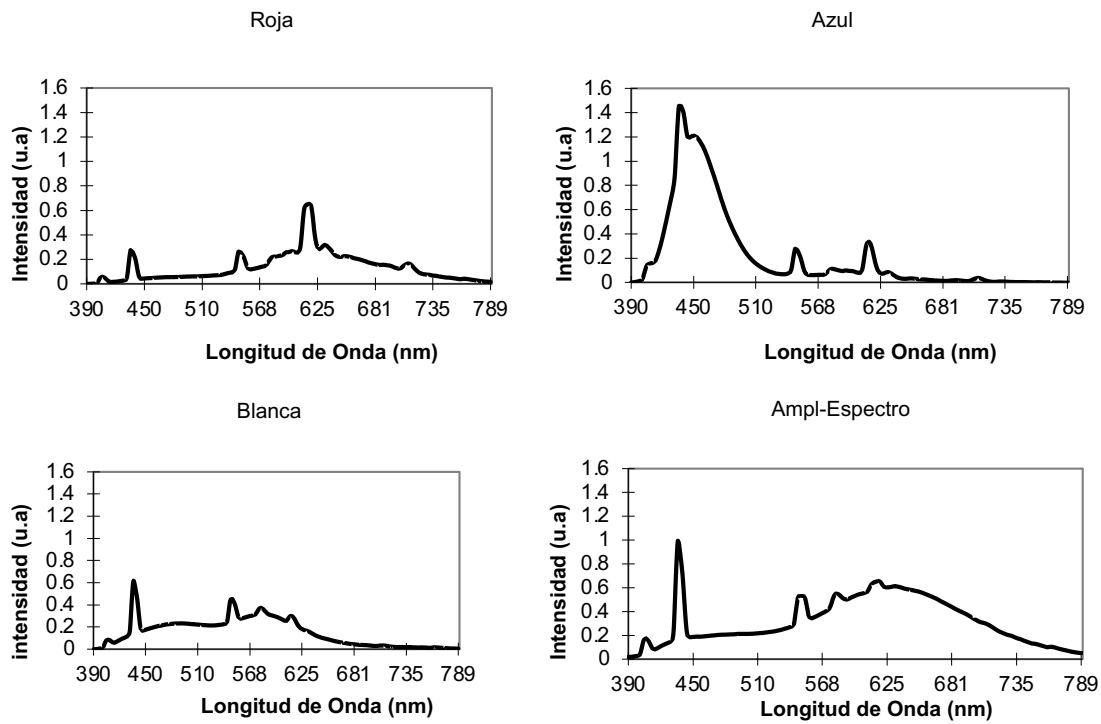


Figura 1. Espectro de luz de las diferentes lámparas utilizadas en el diseño experimental.

Evaluación de características morfológicas

Las características morfológicas que se evaluaron fueron número de yemas activadas, número de hojas y número de raíces.

Cuantificación de clorofila y carotenoides

Para la cuantificación de clorofila se utilizó el NanoDrop Q5000® con las longitudes 664 nm para clorofila A, 649 nm para clorofila B y 470 nm para carotenoides. Para este procedimiento se tomaron 200 mg de muestra de hoja de planta fresca triturando con 1 mL de etanol. La mezcla fue homogenizada en vortex por 3 min. con posterior centrifugación a 10.000 rpm durante 15

minutos a 4°C. El sobrenadante se separó tomando 50µl y se mezcló con 450 µL de etanol. La mezcla de la solución se analizó para determinar el contenido de clorofila-a, clorofila-b y carotenoides en un NanoDrop Q5000®. La ecuación utilizada para la cuantificación de clorofila-a, clorofila-b y carotenoides por diferentes solventes fue la publicada por Nayek Sumanta y col., 2014.

Análisis estadístico

Todos los análisis se llevaron a cabo por triplicado. A los valores obtenidos de clorofila se les aplicó estadística descriptiva (media y desviación estándar), los datos morfológicos fueron analizados mediante análisis de varianza (ANOVA) de una vía y comparación múltiple de medias de Tukey ($p \leq 0.05$).

Resultados y discusión

Evaluación de características morfológicas

Los resultados de las mediciones y conteos de las características morfológicas consideradas, se muestran en el Cuadro 1. donde se observan los mayores promedios para número de hojas y número de raíces, en el tratamiento con luz LED.

Con los resultados obtenidos se encontró que el uso de luces LED a diferencia de la luz roja, luz azul y luz de amplio espectro, promueven una mayor respuesta en cuanto al número de hojas en plantas

in vitro de *Lippia graveolens* (Figura 2b). Resultados muy similares en la producción de biomasa foliar se demostró con el uso de LED en tres diferentes forestales (Astolfi y col., 2012). En dicho estudio llegaron a la conclusión de que el uso de lámparas fluorescentes inducen estrés. Se han dado resultados parecidos y promisorios en la familia Verbenaceae con el uso de luz LED en la producción de biomasa y compuestos orgánicos volátiles (VOCs) en *Lippia filifolia* (Carvalho-Chaves y col., 2020).

Cuadro 1. Efecto de tratamiento de diferentes longitudes de onda de luz sobre parámetros morfológicos de *Lippia graveolens*.

Tratamiento	No de yemas axilares	No de hojas	No de raíces
Luz LED	4.2 ± 0.8 a	5.1 ± 0.4 a	3.2 ± 0.4 a
Luz amplio espectro	4.5 ± 0.9 a	3.0 ± 0.4 b	4.0 ± 0.7 a
Luz azul	2.5 ± 0.5 b	2.2 ± 0.3 b	2.0 ± 0.5 b
Luz roja	2.5 ± 0.5 b	2.6 ± 0.2 b	3.8 ± 0.4 a

Medias con letras diferentes en cada columna indican diferencias estadísticas significativas ($\alpha=0.05$)

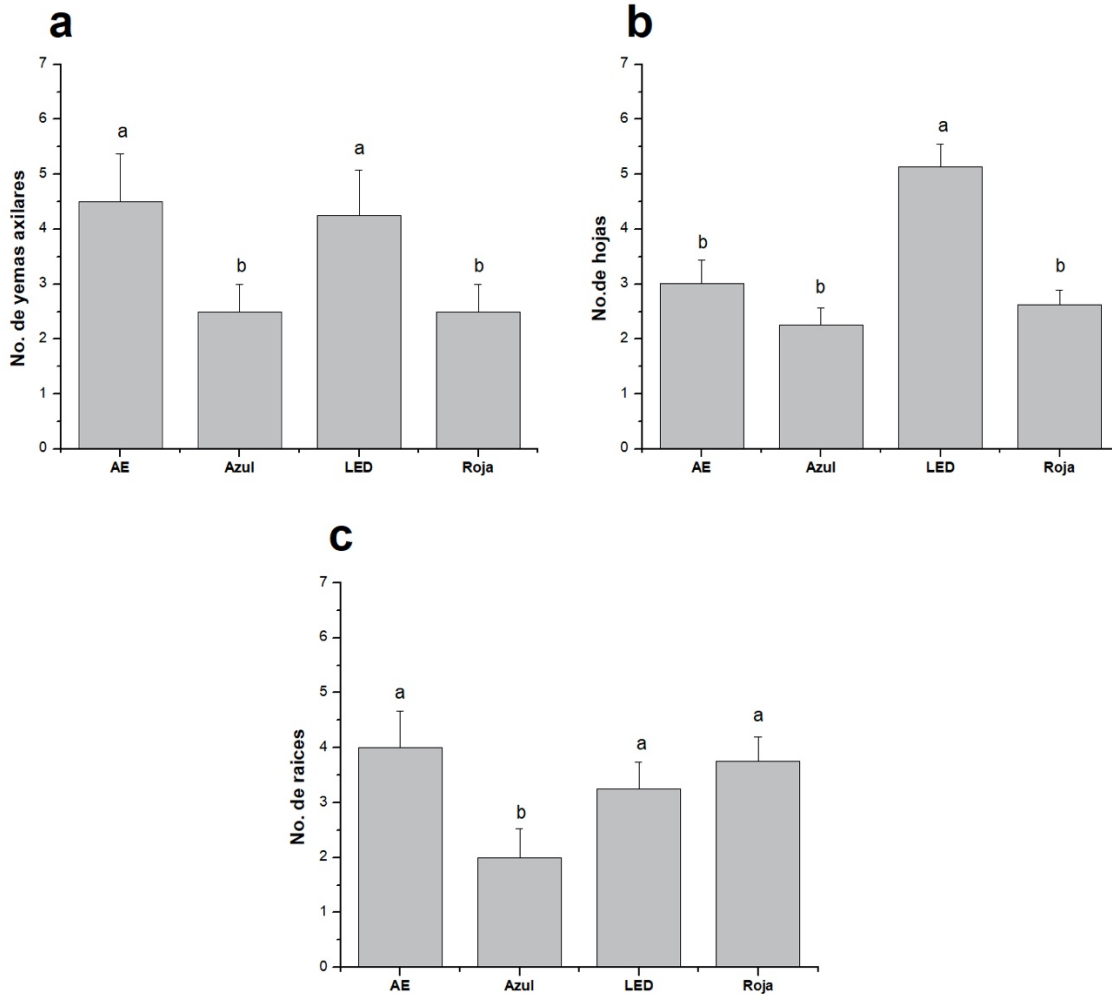


Figura 2. Efecto de diferentes fuentes de luz sobre parámetros morfológicos de *L. graveolens*. a. Número de yemas axilares. b. Número de hojas. c. Número de raíces.

En cuanto a la respuesta de yemas axilares los mejores tratamientos fueron aquellos que estuvieron expuestas a luz LED y amplio espectro, con un promedio de entre 4 y 5 yemas por explante (Figura 2a). Similar a lo demostrado para caña de azúcar con la comparación del uso de luz fluorescente y luz LED (Tomaz-Ferreira y

col., 2017). En cuanto al número de raíces no se vio un efecto significativo que difiriera de las luces LED, amplio espectro y roja, siendo solo menor la respuesta con el uso de luz azul (Figura 2c).

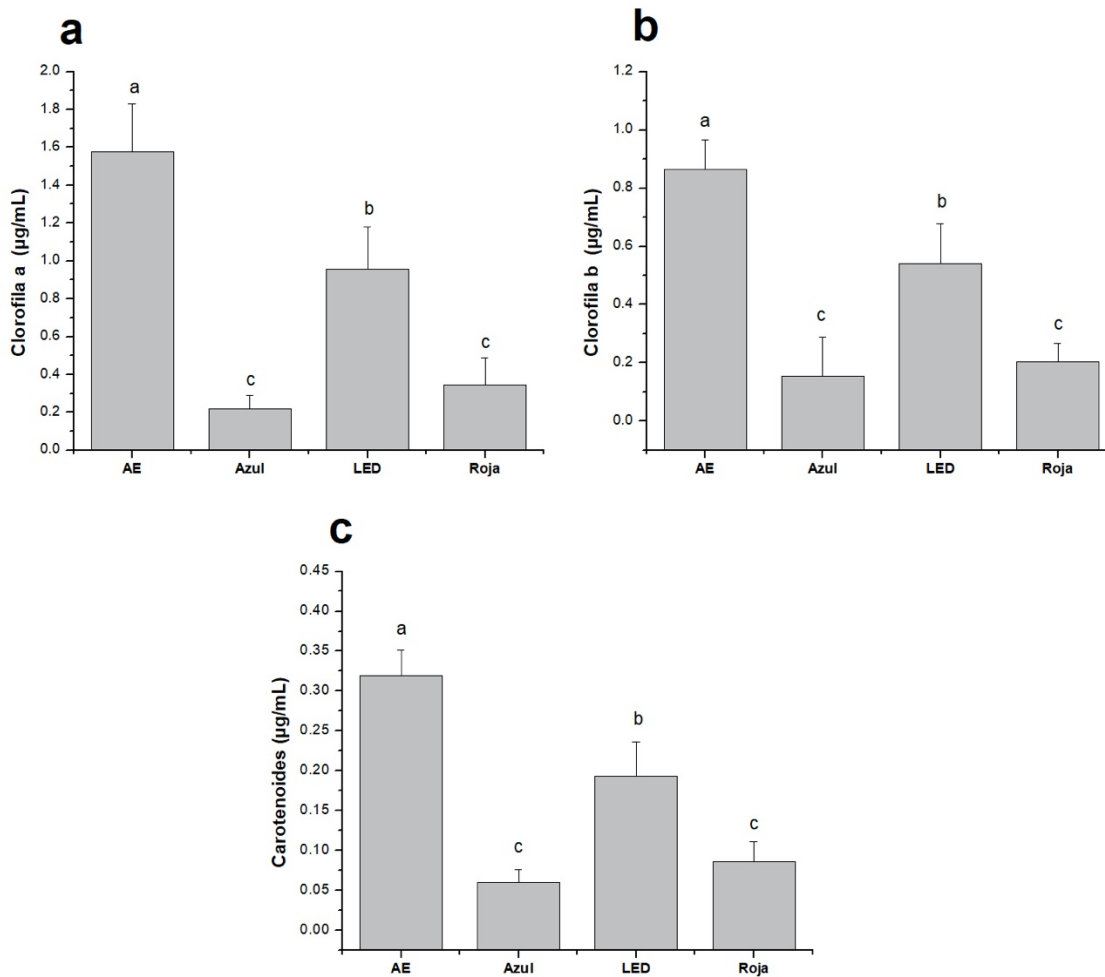


Figura 3. Efecto de diferentes fuentes de luz sobre pigmentos fotosintéticos de plantas de *L. graveolens*. **a.** Clorofila a. **b.** Clorofila b. **c.** Carotenoides.

En el caso de los estudios sobre las clorofilas se observó que hay diferencias significativas en la producción de este pigmento fotosintético bajo las diferentes condiciones de luces siendo el amplio espectro (Cuadro 2) y luz LED con las que se obtuvo una mayor producción de clorofila tanto a como b además de

carotenoides (Figura 3). Carvalho-Chaves y col. (2020) demostraron que para *L. filifolia* el uso de luz LED dan similar respuesta en cuanto a contenidos de clorofila y carotenoides. Similar respuesta obtuvieron para *L. rotundifolia*, demostrando que el uso de LED promueve la producción de pigmentos fotosintéticos (de Hsieh y col., 2019).

Cuadro 2. Efecto de tratamiento de diferentes longitudes de onda de luz sobre pigmentos fotosintéticos de *Lippia graveolens*.

Tratamiento	Clorofila a µg/mL	Clorofila b µg/mL	Carotenoides µg/mL
Luz LED	0.96 ± 0.07 b	0.54 ± 0.13 b	0.19 ± 0.04 b
Luz amplio espectro	1.57 ± 0.25 a	0.86 ± 0.10 a	0.32 ± 0.03 a
Luz azul	0.21 ± 0.07 c	0.15 ± 0.13 c	0.06 ± 0.02 c
Luz roja	0.35 ± 0.14 c	0.20 ± 0.07 c	0.09 ± 0.03 c

Medias con letras diferentes en cada columna indican diferencias estadísticas significativas ($\alpha=0.05$)

Conclusiones

Por todo lo mencionado anteriormente, podemos decir que esta investigación demuestra que si existen cambios tanto en la producción de pigmentos fotosintéticos como en la morfología de las plantas de *Lippia graveolens* bajo las diferentes tipos de luces y esto ayudará para realizar posteriores estudios y determinar bajo que tipo y condiciones de luz son las mas indicadas para el desarrollo de plantas tanto para estudios *in vitro* como para producción bajo condiciones controladas y se podrá disminuir el uso de energía eléctrica y por ende la disminución de los costos de producción.

Agradecimiento

Sánchez-Velazquez agradece la beca CONACYT otorgada para el estudio de la Maestría en Ciencias. La investigación fue desarrollado con fondos del Programa de Apoyo a la Mejora en las Condiciones de Producción SNI (PROSNI 2020) de la Universidad de Guadalajara.

Literatura citada

Astolfi, S., Marianello, C., Grego, S., and Bellarosa, R. 2012. Preliminary Investigation of LED Lighting as Growth Light for Seedlings from Different Tree Species in Growth

Chambers. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 40(2), 31-38.

Carvalho-Chaves M., Evangelista-Freitas J., Carlota-Nery F., Renato-Paiva, Oliveira-Prudente D., Pereira-Costa B., Guilherme-Daubermann A., Moreira-Bernardes M., Michael-Grazul R. 2020. Influence of colorful light-emitting diodes on growth, biochemistry, and production of volatile organic compounds *in vitro* of *Lippia filifolia* (Verbenaceae). Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 212.

CONABIO (Comisión Nacional de Biodiversidad). 2005. Orégano Mexicano: Oro Vegetal. <http://www.conabio.gob.mx/biodiversitas.htm>

de Hsie, Bety Shiue; Bueno, Ana Izabela Sales; Bertolucci, Suzan Kelly Vilela; de Carvalho, Alexandre Alves; da Cunha, Samuel Henrique Braga; Martins, Ernane Ronie; Pinto, José Eduardo Brasil Pereira. 2019. Study of the influence of wavelengths and intensities of LEDs on the growth, photosynthetic pigment, and volatile compounds production of *Lippia rotundifolia* Cham *in vitro*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 198: 111-177.

- Ding Y.; S. He, J.A. Teixeira da Silva, G. Li, y M. Tanaka, 2010. Effects of a new light source (cold cathode fluorescent lamps) on the growth of tree peony plantlets *in vitro*. *Scientia Horticulturae*, 125: 167-169.
- González-Trujano M., Hernández-Sánchez L., Muñoz Ocotero V., Dorazco-González A., Guevara Fefer P., Aguirre-Hernández E. 2017. Pharmacological Evaluation of the anxiolytic-like Effects of *Lippia graveolens* and Bioactive Compounds. *Pharmaceutical Biology* 55: 1569-1576
- Gupta, S.D., y B. Jatothu, 2013. Fundamentals and applications of light-emitting diodes (LEDs) in *in vitro* plant growth and morphogenesis". *Plant Biotechnology Reports*, 7(3): 211-220.
- Liu, W., 2012. Light Environmental Management for Artificial Protected Horticulture. *Agrotechnology*, 1: 1-4
- López-Villafranco M., Aguilar-Contreras A., Aguilar-Rodríguez S., Xolalpa-Molina S. (2017). Las Verbenaceae Empleadas como Recurso Herbolario en México: Una Revisión Etnobotánica-Médica. *Polibotánica* 44: 195-216.
- Nayek Sumanta, Choudhury Imranul H., Jaishee Nishika and Roy Suprakash. 2014. Spectrophotometric Analysis of Chlorophylls and Carotenoids from Commonly Grown Fern Species by Using Various Extracting Solvents. *Research Journal of Chemical Sciences*. 4(9): 63-69.
- Pinho, P.; K. Jokinen, y L. Halonen, 2012. Horticultural lighting – present and future challenges". *Lighting Research & Technology*, 44: 427-437.
- Tomaz Ferreira L., Medeiros de Araújo Silva M., Ulisses C., Rangel Camara T. and Lilia Willadino. 2017. Using LED lighting in somatic embryogenesis and micropropagation of an elite sugarcane variety and its effect on redox metabolism during acclimatization. *Plant Cell Tiss Organ Culture*. 128:211–221.
- Xu, H.I.; Q. Xu, F. Li, Y. Feng, F. Qin, y W. Fang, 2012. Applications of xerophytophysiology in plant production- LED blue light as a stimulus improved the tomato crop. *Scientia Horticulturae*, 148: 190-196.
- Zhang T., y K.M. Folta, 2012. Green light signaling and adaptive response. *Plant Signaling & Behavior*, 7(1): 1-4