

## Descripción y estandarización de la iluminación LED para su utilización en el cultivo *in vitro* de plantas.

Alfonso GAGO CALDERÓN<sup>1</sup>, Marta BARCELÓ MUÑOZ<sup>2</sup>, Araceli BARCELÓ MUÑOZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dpto. Expresión Gráfica, Diseño y Proyectos, Escuela de Ingenierías Industriales, Universidad de Málaga, C/ Dr. Ortiz Ramos S/N C.P. 29.071 - Málaga (SPAIN).

<sup>2</sup> Lab. Cultivo de Tejidos y Biotecnología. IFAPA Centro de Málaga, Cortijo de Cruz S/N 29140 Málaga, España

Email de contacto: [agago@uma.es](mailto:agago@uma.es)

### Resumen

Los sistemas basados en tubos fluorescentes de tipo Grolux tienen una capacidad de configuración muy escasa aparte de la mera selección del número de lámparas, su potencia eléctrica y la distancia de separación con las plantas para conseguir los niveles de radiación que se desean obtener. Contrariamente, las lámparas y luminarias LEDs, ofrecen un amplio abanico de parámetros que deben ser caracterizados para poder homogeneizar, estandarizar y contextualizar adecuadamente los experimentos y procesos desarrollados en estas instalaciones.

En este trabajo se describen y analizan los parámetros de diseño más relevantes a tener en cuenta en instalaciones de iluminación artificial LED para su uso en cultivo *in vitro* de plantas:

- Cantidad de energía radiada incidente en las plantas.
- Caracterización del espectro de emisión generado.
- Identificación de emisión lumínica de flujo constante o pulsante.
- Uniformidad de los niveles de radiación incidente en los distintos puntos de las superficies de trabajo.
- Calor generado por el equipo de iluminación, en el ambiente de cultivo.

### Introducción

Los sistemas basados en tubos fluorescentes (lámparas de descarga que generan luz haciendo pasar corriente eléctrica a través de un gas) de tipo Grolux [Sylvania Lighting Solutions] (ver Figura 1) tienen una capacidad de configuración muy escasa aparte de la mera selección del número de lámparas, su potencia eléctrica y la distancia de separación con las plantas para conseguir los niveles de radiación que se desean obtener. Contrariamente, las lámparas y luminarias basadas en diodos emisores de luz (o LEDs por su acrónimo en inglés que se ha oficializado como una palabra con entidad propia en nuestra lengua por su uso generalizado en múltiples aplicaciones), ofrecen un amplio abanico de parámetros que deben ser caracterizados para poder homogeneizar, estandarizar y contextualizar adecuadamente los experimentos y procesos desarrollados en estas instalaciones.

En este trabajo se describen y analizan los parámetros de diseño más relevantes a tener en cuenta en instalaciones de iluminación artificial LED para su uso en cultivo *in vitro* de plantas:

- Caracterización del espectro de emisión de luz generado
- Cantidad de energía emitida incidente en las plantas
- Calor generado por el equipo de iluminación y transmitido a los cultivos
- Uniformidad de los niveles de radiación incidente en los distintos puntos de las superficies de trabajo
- Identificación de emisión lumínica de flujo constante o pulsante



**Figura 1. Iluminación laboratorio Cultivo de Tejidos y Biotecnología IFAPA Málaga. [Izq] Fluorescencia Grolux [Der] LED (varios espectros lumínicos)**

### Espectro de emisión

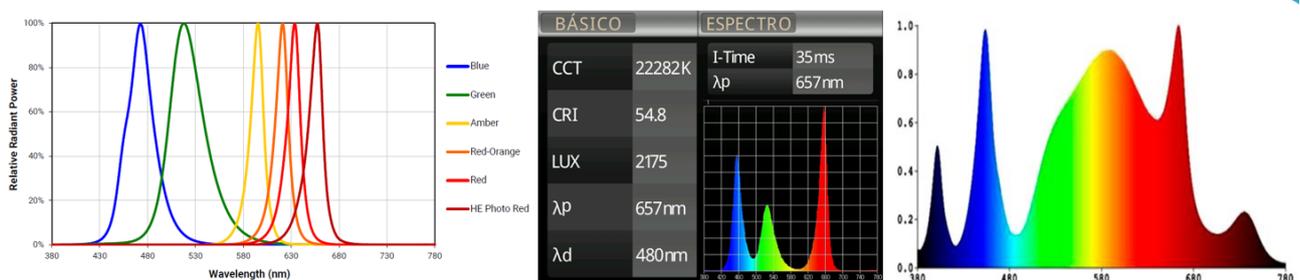
Las fuentes de luz LED tienen una capacidad de reproducción radiante casi total y pueden generar:

- Emisiones monocromáticas dentro [imagen izquierda Fig. 2] y fuera del espectro visible (IR e UV)
- Emisiones de espectro continuo con diferentes cantidades de luz en cada frecuencia.

La alta flexibilidad de las luminarias LED permite combinar estos dos tipos de emisiones.

Cada emisor monocromático se puede ajustar en sus valores de manera precisa en pasos muy pequeños de 5 o 10 nm. Por esto, no es suficiente identificar los colores genéricos utilizados, sino que es necesario detallar las longitudes de onda de todos los picos significativos utilizados. Estos valores los debe ofrecer el fabricante o medirse con un espectro radiómetro que genera curvas de información como la representada en la imagen central en el Fig. 2.

En los espectros continuos, que generan un efecto de luz blanca, se debe caracterizar con todo el diagrama radiante como la imagen derecha de la Fig. 2 o, si no se dispone, usar variables de aproximación como la Temperatura de Color Correlacionada (CCT) y el Índice de Reproductividad Cromática (CRI).



**Figura 2. [Izq] Emisiones monocromáticas generables con LED monocromáticos / [Centro] medida con espectro radiómetro de luminaria de combinación de emisores monocromáticos // [Der] Caracterización de fabricante de luminaria LED que combina emisores de espectro continuos (blanco neutro) con emisores monocromáticos (UV + PhotoRed 660 nm + Far Red 720 nm)**

### Energía de Emisión

Descripción y estandarización de la iluminación LED para su utilización en el cultivo *in vitro* de plantas.

La cantidad de luz que se genera en las luminarias de una instalación y que llega o incide en las plantas se puede caracterizar usando diferentes variables luminotécnicas.

No es conveniente medir la cantidad de luz que se aplica utilizando valores de iluminancia, medidos con un luxómetro (luxes), ya que no refleja de manera precisa la cantidad de fotones que llegan a las plantas. El lux es una unidad adaptada a la percepción de la luz incidente del ojo humano y no cuantifica igual el rango del espectro verde-amarillo (más sensible) que el de los azules o los rojos (menos sensible). Esta manera de medir genera valores más altos para el primer grupo que para los otros dos considerando una misma cantidad de radiación. Ver Fig. 3 izquierda. Igualmente, la energía total emitida tampoco es una unidad adecuada de caracterización al no poderse valorar de manera precisa cuánta radiación se dirige a las plantas y cuánta se pierde en el entorno.

La variable de medida más recomendable es la Densidad de Flujo de Fotones Fotosintéticos (PPFD), unidad  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , y se registra con un sensor de PAR, que sí valora de manera igualitaria las radiaciones en casi la totalidad del espectro visible (ver Fig. 3 derecha). Este valor del PPFD se debe medir a la altura donde incide la luz los tubos o vasijas que contienen las plantas. De este modo, se debe medir en el plano paralelo a la base de la estantería que incluye los cierres superiores de los frascos o tubos de cultivo.

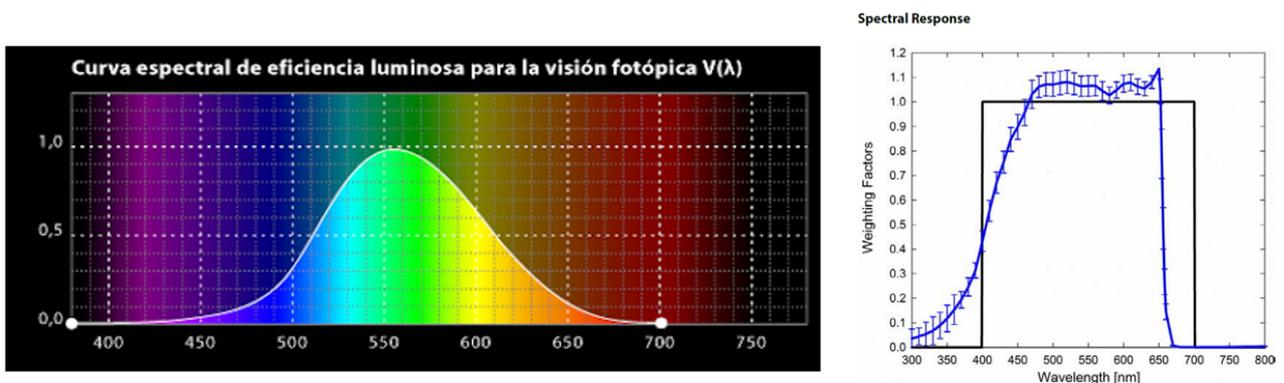


Figura 3. Curvas de sensibilidad de [Izq] Luxómetros (sensibilidad ojo humano) [Der] Sensor cuántico (radiación PAR)

### Calor Transmitido

Todo equipo eléctrico genera calor por su uso, sin embargo, la cantidad y el tipo del mismo varía mucho en función de la naturaleza, en este caso, de la tecnología de las lámparas.

Los tubos fluorescentes son una tecnología de descarga. Un pico elevado de tensión ioniza los gases almacenados dentro del tubo generando plasma a temperatura por encima de los  $1000^{\circ}\text{C}$  y permitiendo la emisión de fotones. Esto hace que se genere una cantidad elevada de calor radiante que se proyecta en el entorno de las cámaras de cultivo y, especialmente, en la parte superior de los recipientes de las plantas.

La iluminación LED se basa en emisores de estado sólido donde solo un bajo voltaje se requiere para lanzar fotones luminosos. La temperatura máxima que se alcanza en el interior de los cristales de los LEDs llega a valores de  $125^{\circ}\text{C}$  lo que hace inexistente el calor radiante. Sin embargo, esta temperatura se debe controlar para garantizar los tiempos de vida y la eficiencia de los equipos, por lo que se usan radiadores metálicos que lo evacúan por conducción. Es importante que este calor evacuado no se pueda conducir por contacto directo como las paredes de las estanterías, lo que aumentaría su temperatura y afectaría, como en los fluorescentes, a los recipientes de cultivo.

La Figura 4 muestra tres figuras tomadas con una cámara termográfica donde se observa las diferencias medias de temperaturas superficiales de tubos fluorescentes (izquierda) y tubos LED (derecha). Se puede ver como es

Descripción y estandarización de la iluminación LED para su utilización en el cultivo *in vitro* de plantas.

muy superior la de los primeros y como los disipadores metálicos de los segundos reducen y disipan el calor de la línea central donde se colocan los LEDs.

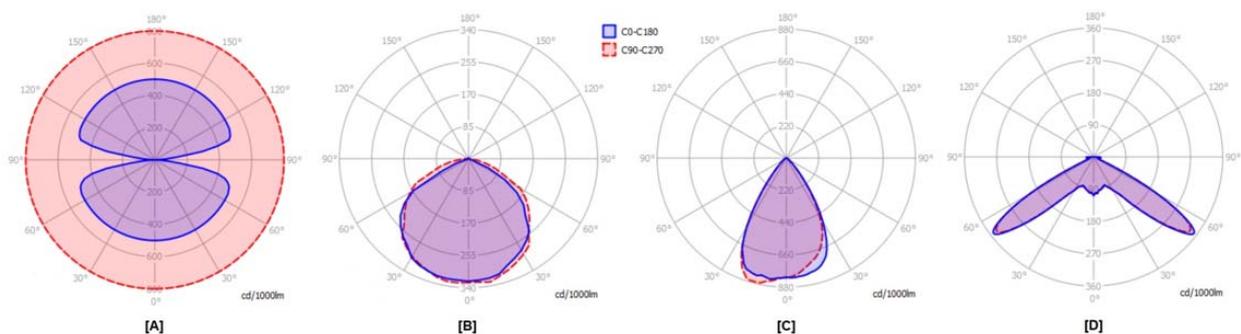


**Figura 4. Imágenes Termo gráficas de la temperatura superficial exterior de [Izq] Fluorescentes GroLux [Der] Tubos LED Rojo 660nm**

### Uniformidad

Hay dos aspectos diferenciales entre la fluorescencia y los LEDs que es imprescindible considerar en el cultivo *in vitro*:

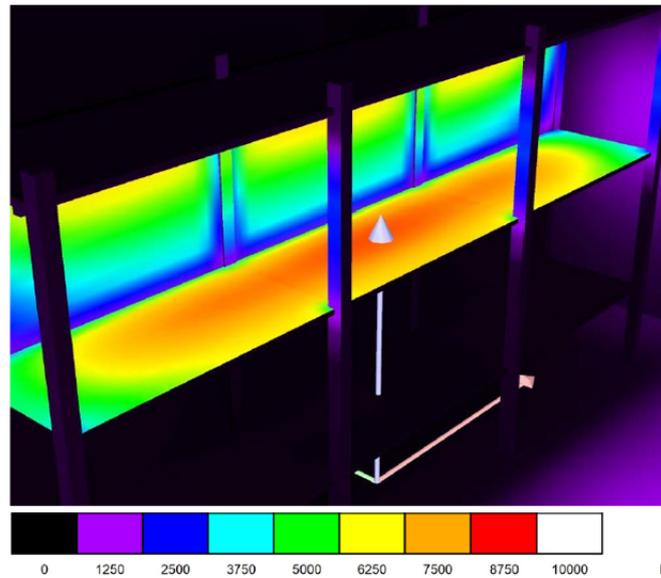
- A. Mientras que los fluorescentes emiten una luz continua, el carácter discreto de los LEDs hace que la emisión de luz no sea idéntica en todo el espacio.
- B. Las lámparas fluorescentes emiten omnidireccionalmente (Fig. 5.A) obteniéndose una gran uniformidad en la iluminación de las diferentes partes de la cámara. El aprovechamiento de la luz en estas cámaras requiere de paredes blancas y reflectores para reconducirla, en lo posible, hacia las plantas. Los LEDs, por su lado, emiten de manera direccional en formatos muy diferentes en función de qué lentes tengan integradas (Fig. 5.B/C/D). Estas minimizan las pérdidas de radiación al focalizarse en las plantas y reducen la contaminación lumínica entre baldas pero, sin embargo, pueden generar niveles de radiación irregulares en la superficie de trabajo. Simulaciones lumínicas como la de la Fig. 6 que usen las fotometrías de las luminarias a usar, para cada uno de los colores, y mediciones espaciales se deben realizar para garantizar homogeneidades mayores del 70% ( $E_{min}/E_m$ )



**Figura 5. Diagramas fotométricos [A] fluorescencia [B/C/D] posibilidades de concentración en lámparas LED con lentes secundarias**

### Radiación Continua / Pulsante

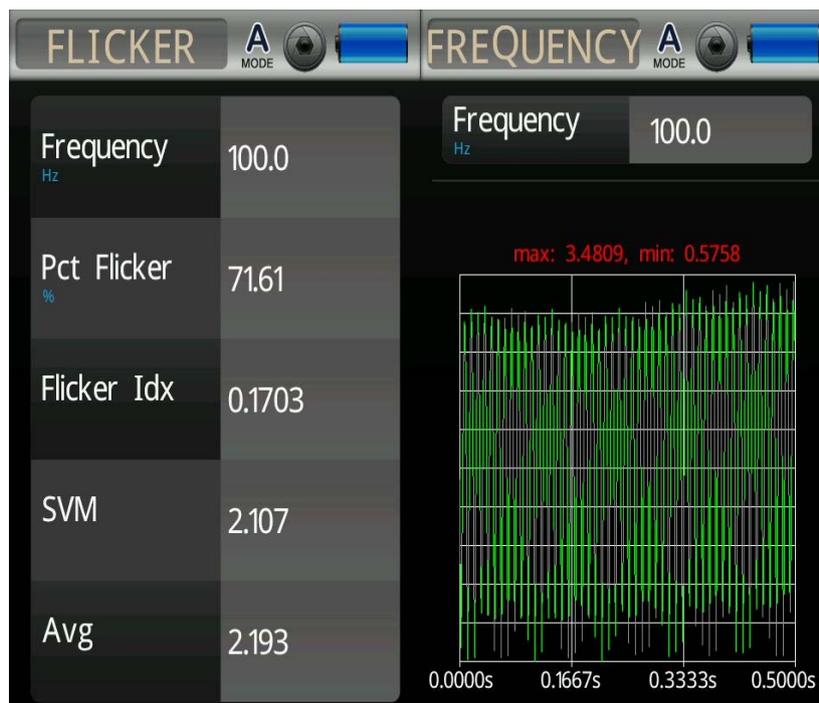
Estudios como los de Kanechi (2018) demuestran que otro parámetro que influye en el crecimiento de las plantas es el flujo temporal de la radiación que se recibe. Pulsos controlados de encendido/apagado, de diferentes frecuencias, tienen un efecto contrastado.



**Figura 6. Simulación lumínica Instalación [Intensidad/Uniformidad]**

En la iluminación fluorescente se trabaja amplificando la tensión alterna de la red y se tiene siempre una luz pulsante, entre 100 y 1 kHz según el tipo de balastro utilizado. Esta es una necesidad base de este tipo de iluminación y su capacidad de regulación es muy limitada.

Sin embargo, en la iluminación LED, el modo de trabajo en tensión continua (corriente continua) permite generar una emisión lumínica muy constante y estable en el tiempo, sin apenas fluctuaciones. Igualmente, la naturaleza electrónica de los LEDs permite una rápida conmutación de sus emisiones y su regulación mediante controladores digitales. Con estos se pueden programar múltiples modos de trabajo en AMPLITUD, FRECUENCIA y PERIODOS ACTIVOS de radiación. La identificación de estas tres variables es significativo para la adecuada caracterización de un tratamiento/experimento. Los valores emitidos se pueden medir, como se muestra en la Fig. 7. usando un espectro radiómetro con capacidad para medir el “Flicker” o los valores de parpadeo de la luz pulsada.



**Figura 7. Medida de parpadeo pulsante y frecuencia de la radiación lumínica**

## **Conclusiones**

La gran cantidad de trabajos publicados en los últimos años utilizando tecnología LED en cultivo de tejidos vegetales muestra que el interés por este tipo de fuentes de luz sigue creciendo claramente. Esto se debe a que el uso de LED ha abierto un enorme campo de posibilidades haciendo que la luz pase de ser un factor determinante para la fotomorfogénesis, pero con poca capacidad de manipulación, a ser un componente configurable de manera muy específica, permitiendo el control y manipulación del crecimiento y morfogénesis *in vitro*.

Sin embargo, si bien los parámetros de evaluación de los resultados de los estudios e investigaciones analizados son, en general, muy similares o equivalentes; la descripción de los experimentos realizados revela una clara heterogeneidad de configuraciones y enfoques desde el punto de vista de las instalaciones de iluminación. Esto coincide con lo indicado por Batista *et al.* (2018), quienes señalaron que los principales problemas de la falta de un protocolo de reproducibilidad entre laboratorios son los factores ambientales y que la luz (en cantidad y, particularmente, en calidad) es uno de esos factores principales. En este trabajo se ha realizado un resumen de las 5 principales variables de valoración y caracterización de instalaciones lumínicas para cultivo *in vitro* y cómo se deben detallar en la descripción del 'Material y Métodos' para que los resultados obtenidos puedan ser comparables con otros estudios o trabajos.

## **Referencias**

Batista, D. S., Felipe, S. H. S., Silva, T. D., de Castro, K. M., Mamedes-Rodrigues, T. C., Miranda, N. A., . & Otoni, W. C. (2018). Light quality in plant tissue culture: does it matter?. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 54(3), 195-215.

Kanechi, M. (2018). Growth and photosynthesis under pulsed lighting. *Photosynthesis from its Evolution to Future Improvements in Photosynthetic Efficiency Using Nanomaterials; Cañedo, JCG, Ed, 17-29.*

## **Financiación**

I Plan Propio Integral de Docencia. Universidad de Málaga.