

---

# ESTABLECIMIENTO *IN VITRO* Y EFECTO FISIOLÓGICO DE MEDIO DE CULTIVO CON COLOR EN EXPLANTES DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum officinarum*)

## *IN VITRO* ESTABLISHMENT AND PHYSIOLOGICAL EFFECT OF CULTURE MEDIUM WITH COLOR IN SUGAR CANE EXPLANTS (*Saccharum officinarum*)

Aguilar-Jiménez, D.<sup>1\*</sup>; Rodríguez-Monfil, Y.<sup>1</sup>; Salgado-Bravo, R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa Educativo de Agrobiotecnología. Universidad Tecnológica de Izúcar de Matamoros. Prolongación Reforma No. 168, Barrio de Santiago Mihuacán, Izúcar de Matamoros, Puebla, México. CP. 74420.

\* Autor para correspondencia: [aguilard229@gmail.com](mailto:aguilard229@gmail.com)

**Recibido:** 22/septiembre/2023

**Aceptado:** 05/enero/2024

### RESUMEN

En todas las plantas, la luz representa un factor primordial para su crecimiento y desarrollo. Por cada molécula de CO<sub>2</sub> empleada como materia prima, las plantas necesitan cierto número de unidades elementales de luz, la cual controla el crecimiento y desarrollo de las plantas. Sin embargo, no existe información científica publicada que mencione la adición de colorantes al medio de cultivo para su estudio en plantas *in vitro*. Por ello, el objetivo de la presente investigación fue establecer explantes de variedades de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en condiciones *in vitro*, y determinar si el tipo de color en el medio de cultivo, tiene algún efecto fisiológico de importancia agrícola que permita plantear mejoras en su propagación. Para ello, se desinfectaron ápices apicales de siete variedades y se establecieron en un medio nutritivo MS con sacarosa 30 g·L<sup>-1</sup>, mio-inositol 100 mg·L<sup>-1</sup> y agar-agar 7 g·L<sup>-1</sup>, se dividió en partes iguales y se agregaron por separado los colorantes de anilina verde, rojo y azul, considerando un tratamiento sin color como tratamiento control, se ajustó el pH a 5.7 ± 0.01 y se esterilizó en autoclave. Los resultados indican que el tipo de color en el medio de cultivo MS, sí tiene efecto

fisiológico sobre brotes de *S. officinarum* variedad Mex 79-431 cultivados *in vitro*, siendo el color verde quien mejor favoreció el crecimiento o longitud de tallo significativamente (DMS,  $p=0.05$ ) (4.9 cm) y el color azul inhibió el crecimiento, también de forma significativa (DMS,  $p=0.05$ ) (1.8 cm).

**Palabras clave:** crecimiento, establecimiento, explantes, micropropagación.

## ABSTRACT

In all plants, light represents a primary factor for their growth and development. For each molecule of CO<sub>2</sub> used as raw material, plants need a certain number of elemental units of light, which controls the growth and development of plants. However, there is no published scientific information that mentions the addition of dyes to the culture medium for study in *in vitro* plants. Therefore, the objective of the present investigation was to establish explants of sugarcane varieties (*Saccharum officinarum*) under *in vitro* conditions, and determine if the type of color in the culture medium has any physiological effect of agricultural importance that allows us to propose improvements in its propagation. For this, apical tips of seven varieties were disinfested and established in a MS nutrient medium with sucrose 30 g·L<sup>-1</sup>, myo-inositol 100 mg·L<sup>-1</sup> and agar-agar 7 g·L<sup>-1</sup>, it was divided into equal parts and the green, red and blue aniline dyes were added separately, considering a treatment without color as a control treatment, the pH was adjusted to  $5.7 \pm 0.01$  and it was sterilized in an autoclave. The results indicate that the type of color in the MS culture medium does have a physiological effect on shoots of *S. officinarum* variety Mex 79-431 grown *in vitro*, with the green color being the one that significantly favored growth or stem length (DMS,  $p=0.05$ ) (4.9 cm) and the blue color inhibited growth, also significantly (DMS,  $p=0.05$ ) (1.8 cm).

**Keywords:** growth, establishment, explants, micropropagation.

## INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, el cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) es uno de los cultivos más importantes por la superficie cultivada, el número de productores involucrados y empleos que se generan (Figuroa-Rodríguez *et al.*, 2015). En México y

América Latina, la historia del cultivo de caña de azúcar data de la mitad del siglo XVI, abarcando desde la producción agrícola hasta la elaboración de piloncillo, azúcar de mesa mascabada y destilación de aguardiente (Martínez-González *et al.*, 2019). Se reporta por Figueroa-Rodríguez *et al.* (2015), que dicho cultivo ha llegado a ocupar en México el séptimo lugar en área cultivada (673 480 hectáreas), generando 440 mil empleos directos y aportando el 2.1 % al Producto Interno Bruto (PIB) y 8.6 % al PIB agropecuario. Sin embargo, y a pesar de su importancia económica en nuestro país, cuando se compara el rendimiento a nivel internacional, somos superados en 20 toneladas por Brasil y 55 toneladas por Colombia, donde éste último, reporta un rendimiento de 120 toneladas por hectárea según Santillán *et al.* (2014). Algunos de los factores que manifiestan la falta de competitividad internacional de los rendimientos de caña de azúcar en campo son el clima (Valade *et al.*, 2014), la fertilización (Lofton *et al.*, 2012), la disponibilidad de riego e inversión en el cultivo (Santillán *et al.*, 2014), suelos no óptimos, tamaño de las unidades de producción y problemas por plantaciones vulnerables (Aguilar *et al.* 2012), principalmente por una genética desgastada frente a plagas, enfermedades y factores climáticos. Con base al contexto anteriormente expuesto, el cultivo de tejidos vegetales *in vitro* es una herramienta biotecnológica que se fundamenta en la totipotencia celular y a partir de células o tejidos (explante) cultivados asépticamente en medios de cultivo controlados, se pueden obtener plantas libres de plagas, enfermedades y virus (Ramírez-Mosqueda *et al.*, 2022). También, permite obtener plantas rejuvenecidas y que puedan expresar su potencial genético en un mejor rendimiento (Mancilla-Álvarez *et al.*, 2021). Para dicho fin, ya se cuenta con protocolos para la micropropagación de caña de azúcar como lo publicado por Bello-Bello *et al.* (2014) en la Var. Mex-69-290, y por Rangel-Estrada, *et al.* 2016) quienes mencionan la micropropagación de las variedades ITV 92-1424, Laica 82-2220 y Q28-2, logrando la regeneración de plantas mediante organogénesis directa a partir de meristemos apicales en un medio de cultivo de Murashige y Skoog (1962), adicionado con N6-Benciladenina (BA) y ácido-indol-3-acético (AIA), con un éxito en la aclimatización del 95 al 98 % de supervivencia; así como por Hernández-Pérez *et al.* (2021) para diferentes cultivares de caña de azúcar (*Saccharum* spp. Hybrids). Sin embargo, el costo de las técnicas de micropropagación suele ser más alto que las técnicas convencionales a pesar de brindar mejores ventajas, por ello, se han implementado estrategias que bajen dichos costos como lo menciona Criollo-Chan *et al.* (2016) en la variedad de caña de azúcar CP 94-1674, mediante el

empleo de biorreactores de inmersión temporal y el empleo de Diodos Emisores de Luz (LED). Incluso, también con técnicas convencionales de propagación de caña de azúcar se busca reducir costos (Tadeu y Aparecida, 2020). Así mismo, se sabe que la luz juega un papel vital en los organismos con capacidad de realizar fotosíntesis para la elaboración de sustancias orgánicas que les sirven como alimento. No obstante, por cada molécula de CO<sub>2</sub> empleada como materia prima por la planta, se necesita cierto número de fotones o unidades elementales de luz dependiendo de la cantidad de luxes en el día (día soleado o nublado), y también va a depender del tipo de la planta para aprovechar la luz de mayor intensidad luminosa. Sin embargo, el concepto de fotomorfogénesis indica que la luz controla el crecimiento y desarrollo de las plantas sin tomar en cuenta a la fotosíntesis; es decir, que el efecto fisiológico observado en una planta, puede deberse a la mezcla de radiaciones (luz) de distinta longitud de onda y distinto color (Sabater, 1977; Blanco-Valdés, 2019). En este contexto, se han realizado diferentes trabajos empleando cubiertas plásticas y LEDs de diferente color para mejorar la producción agrícola, ya sea en invernadero o laboratorio de micropropagación (Reuveni y Evenor, 2007; Shin *et al.*, 2008; Casierra-Posada *et al.*, 2009; Lin *et al.*, 2011; Montemayor-Trejo *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2012; 2013; Bello-Bello *et al.*, 2016; Martínez-Estrada *et al.*, 2016; Ramos y Ramírez, 2016). Sin embargo, se desconoce de publicaciones científicas donde se reporten resultados con medio de cultivo de color para el cultivo de plantas *in vitro*, considerando que ya se mencionan alternativas para la micropropagación de otras especies como mencionan Pérez-de-León, *et al.* (2020). En ese tenor, el objetivo de la presente investigación fue establecer explantes de variedades de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en condiciones *in vitro*, y determinar si el tipo de color en medio de cultivo tiene algún efecto fisiológico de importancia agrícola.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Lugar del experimento

La realización del presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología del Programa Educativo de Agrobiotecnología de la Universidad Tecnológica de Izúcar de Matamoros, ubicada en Prolongación Reforma No 168, Barrio de Santiago Mihuacán, Izúcar de Matamoros, Puebla. C.P. 74420.

## Material vegetal

Para el establecimiento *in vitro*, se emplearon las variedades de caña de azúcar (*Saccharum* sp.) Cp 72-2086, Mex 79-431, Mex 69-749, MY 55-14, ATEMex 96-190, Mex 57-473 y ATEMex 96-40, colectadas en el municipio de Atencingo, Chietla, Puebla en el mes de enero del año 2020; se colectaron puntas apicales de 7 a 10 cm aproximadamente en la mañana (antes de las 10 am) para trasladarse al laboratorio y obtenerse ápices frescos de aproximadamente 8 mm.

## Establecimiento *in vitro* de explantes de variedades de *Saccharum officinarum*

Por separado y para cada variedad de *S. officinarum*, se aislaron ápices apicales y se sometieron a un lavado con solución detergente por 5 minutos, se enjuagaron con agua potable hasta que se eliminó la espuma del detergente y se colocaron en un recipiente con etanol al 70 % (v/v) por 3 minutos. Después, se enjuagaron con agua destilada y se colocaron en una solución de hipoclorito de sodio al 20 % (v/v) por 15 minutos en campana de flujo laminar; posteriormente se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril, se eliminaron los tejidos dañados por la desinfección, se aislaron los ápices de 5 a 8 mm aproximadamente y se sembró uno por cada tubo de ensayo en con medio MS (Murashige y Skoog, 1962) más suplementos, según la metodología de Hernández-Pérez *et al.* (2021).

## Efecto fisiológico de diferente color en medio de cultivo MS sobre explantes de *Saccharum officinarum* var. Mex 79-431

Se emplearon explantes de *S. officinarum* var. Mex 79-431, ya que fue la variedad que formó brotes en la etapa anterior. Para evaluar el efecto de diferente color en el medio de cultivo, se empleó un medio únicamente con las sales inorgánicas MS más sacarosa  $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , mio-inositol  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y agar-agar  $7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , ajustando la solución final a un pH de  $5.7 \pm 0.01$  y dividiéndose en partes iguales para adicionarse por separado tres colorantes diferentes (rojo, verde y azul) de origen vegetal (anilina) a razón de  $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , con lo cual, se obtuvieron cuatro tratamientos diferentes considerando un medio de cultivo sin colorante como tratamiento control. Después de fundir el agar en cada tratamiento, se vertieron 10 mL por tubo de ensayo, se cubrieron con tapas hechas de papel aluminio (Azteca®) y se sometieron a esterilización mediante una autoclave de vapor de agua tipo horizontal a  $1.5 \text{ kg}\cdot\text{cm}^2$  durante 25 minutos. Finalmente, los tubos sembrados con brotes

de *S. officinarum* variedad Mex 79-431, se colocaron en el área de incubación por cuatro semanas.

### **Análisis de datos**

Para calcular el porcentaje de supervivencia de explantes al establecimiento *in vitro*, se consideraron diez tubos de ensayo con un ápice apical cada uno por variedad. La gráfica se elaboró mediante Microsoft Excel. Para la longitud de brotes de *S. officinarum* var. Mex 79-431, el diseño experimental fue completamente al azar y se emplearon tres repeticiones por tratamiento, considerando como unidad experimental a cada tubo de ensayo con un explante cada uno. Se aplicó un análisis de varianza y una prueba de la diferencia mínima significativa (DMS) con un valor de  $p=0.05$  para comparar las medias de los tratamientos.

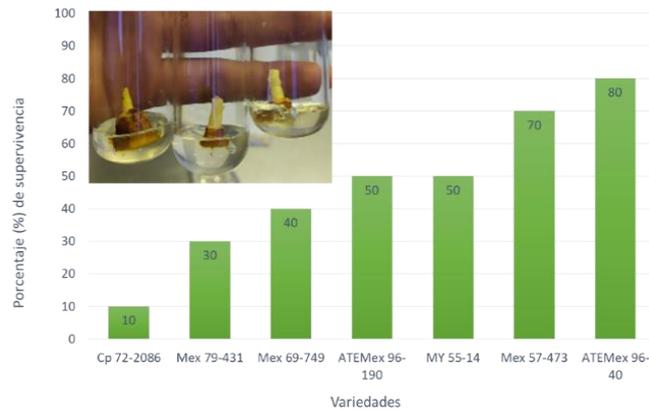
## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Establecimiento *in vitro* de explantes de variedades de *Saccharum officinarum***

Los resultados obtenidos indican que uno de los problemas para lograr el establecimiento *in vitro* de explantes de *S. officinarum*, no sólo es la presencia exclusivamente de microorganismos como menciona Bello-Bello y Spinoso-Castillo (2023), sino también de la necrosis que pueden sufrir los tejidos, ya sea por liberación de sustancias fenólicas al causar heridas durante la obtención de explantes (Perales *et al.*, 2016; Martínez Rivero *et al.*, 2020 y Vásquez-Hernández *et al.* 2021), o por la posible presencia de etileno como publicó Aguilar-Jiménez y Rodríguez –De-la-O (2020) en plantas de *Euphorbia nutans* Lag., Bello-Bello *et al.* (2010) y Ochoa-Alejo y Ramírez-Malangón (2001) en plantas de *Capsicum* spp., pudiendo afectar la obtención de respuestas morfogénicas (Kumar *et al.*, 1998) e incluso causar una apoptosis celular como sucedió en este trabajo con variedades Cp 72-2086 y Mex 79-431 de *S. officinarum*, registrándose la mayor pérdida de explantes con 90 % y 70 %, respectivamente, por tejidos necrosados que por crecimiento de microorganismos en los recipientes de cultivo (Figura 1); coincidiendo con Arellano *et al.* (2015), que la mayor pérdida del material vegetal ocurre en los primeros subcultivos o durante el establecimiento, y por ello debe de llevarse a cabo la etapa cero (pretratamientos fitosanitarios, nutrición y podas de rejuvenecimiento) de manera estricta (Neumann *et al.*, 2020) para tener mayor posibilidad de éxito en la etapa de

establecimiento bajo condiciones *in vitro*. No obstante, los resultados sugieren que para plantear un proyecto de propagación de plantas *in vitro*, se debe considerar no sólo a la especie vegetal, sino el cultivar o variedad de acuerdo a lo publicado por Domínguez-Rosales *et al.* (2008) con especies de *Agave*, pues incluso un genotipo diferente podría determinar el éxito de protocolos ya establecidos como sucedió en el presente estudio, donde el porcentaje de sobrevivencia de explantes estuvo determinado por la reacción fisiológica de cada variedad de *S. officinarum*, y no precisamente por el protocolo de desinfección sugerido por Hernández-Pérez *et al.* (2021) o a lo que comentan Jiménez *et al.* (1995) (Figura 1).

**Figura 1.** Porcentaje de explantes, por variedad de *S. officinarum*, que sobrevivieron al proceso de establecimiento *in vitro* por problemas de necrosis.



**Fuente:** elaboración propia.

Así mismo, la capacidad morfogénica de los cultivos *in vitro* está determinada por la especie e incluso a nivel variedad (Neumann *et al.*, 2020). Aspecto observado en el presente trabajo con la variedad Mex 79-431 de *S. officinarum*, pues a pesar de tener un porcentaje de supervivencia bajo en comparación con las otras variedades establecidas, mostró mejor capacidad para la formación de brotes *in vitro*, los cuales fueron empleados para determinar si el tipo de color en el medio de cultivo, tiene algún efecto fisiológico de importancia agrícola para *S. officinarum*.

**Figura 2.** Formación de brotes en explantes de *S. officinarum* variedad Mex 79-431 cultivada *in vitro*.

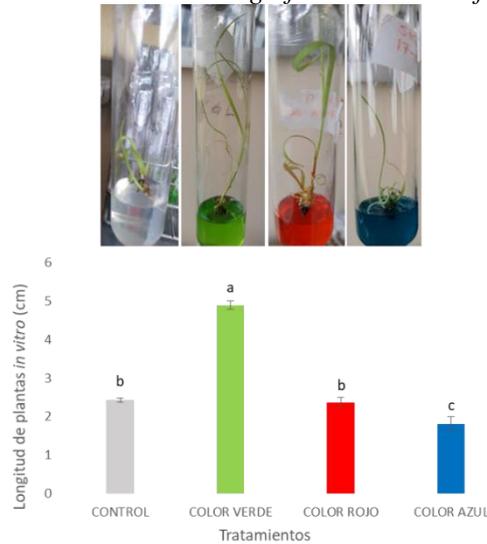


*Fuente:* elaboración propia.

### **Efecto fisiológico de diferente color en medio de cultivo MS sobre explantes de *Saccharum officinarum***

Las respuestas obtenidas indican que el color verde influye significativamente (DMS,  $p=0.05$ ) sobre el crecimiento (4.9 cm) de brotes *in vitro* de *S. officinarum* variedad Mex 79-431. Este resultado coincide con lo publicado por McCoshum y Kiss (2011) y Johkan *et doal.* (2012), quienes indican que el crecimiento de plantas adultas y plántulas se mejoran con el uso de luz verde, pues este espectro de luz inactiva los criptocromos cry, los cuales son fotorreceptores de luz azul. Sin embargo, el medio de cultivo con color azul inhibió de forma significativa (DMS,  $p=0.05$ ) el crecimiento (1.8 cm) de los brotes de *S. officinarum* variedad Mex 79-431, aún con relación al control (sin color). Esta respuesta puede deberse, porque los fotorreceptores que absorben la luz azul, son los criptocromos que controlan la morfología de la planta, inhibiendo fuertemente la elongación del tallo (Folta y Childers, 2008; Zhang y Folta, 2012; Wang y Folta, 2013). Con respecto al medio de cultivo con color rojo, tal vez no favoreció la longitud de brotes de *S. officinarum* variedad Mex 79-431 en condiciones *in vitro*, porque el espectro de este color incrementa la tasa fotosintética incrementando el peso seco (Nishimura *et al.*, 2009), lo que explica el resultado obtenido, pues a diferencia de los demás tratamientos, las plantas lucían con mejor vigor de tallo y hojas (Figura 3).

**Figura 3.** Efecto del color en la longitud de plantas de *S. officinarum* var. Mex 79-431. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes (DMS,  $p=0.05$ ).



**Fuente:** elaboración propia

## CONCLUSIONES

El porcentaje de supervivencia de explantes al establecimiento *in vitro* de las siete variedades de caña de azúcar (*S. officinarum*), estuvo determinado por cada variedad al mismo protocolo de desinfección. El principal factor determinante en el éxito de la supervivencia de explantes durante la etapa de establecimiento *in vitro*, fue la necrosis de tejidos y el obscurecimiento del medio por liberación de sustancias fenólicas según la variedad de *S. officinarum*. Así mismo, la formación de brotes *in vitro* a partir de explantes establecidos dependió de la variedad, siendo Mex 79-431 la que mostró mejor respuesta. Por lo tanto, la variedad de *S. officinarum* es una variable que debe considerarse en proyectos para su propagación *in vitro*.

Se determinó que el tipo de color en el medio de cultivo MS, sí tiene efecto fisiológico sobre brotes de *S. officinarum* variedad Mex 79-431 cultivados *in vitro*. El color verde favoreció el crecimiento o longitud de tallo significativamente (DMS,  $p=0.05$ ) (4.9 cm), y el color azul inhibió el crecimiento también de forma significativa (DMS,  $p=0.05$ ) (1.8 cm). El color rojo no tuvo efecto fisiológico en la longitud de tallo, pero sí en mejorar el vigor de tallos y hojas.

## REFERENCIAS

- Aguilar, R. N., Rodríguez, L. D. A., Enríquez R, V., Castillo, M., A. y Herrera, S, A. (2012). The Mexican sugarcane industry: overview, constraints, current status and long-term trends. *Sugar Tech.*, 14(3):207-222.
- Aguilar-Jiménez, D. y Rodríguez-de-la-O, J. L. (2020). Efecto de nitrato de plata en la germinación *in vitro* de *Euphorbia nutans* Lag. *Bioteología Vegetal*, 20(4):338-350.
- Arellano-Litardo, A. C., Korneva, S. B., Fischer, F. C., Tola, N. A., Ramos-Leal, M., & Pincay-Flores, A. (2015). Obtención de semilla biotecnológica de caña de azúcar (*Saccharum* spp. híbrido) de alta calidad genética y fitosanitaria en el Ecuador. *Revista Colombiana de Bioteología*, XVII (1):101-110.
- Azofeifa, A. (2009). Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes cultivados *in vitro* (en línea). *Agronomía Mesoamericana*, 20(1):153-175. ISSN: 1021-7444.
- Bello-Bello, J. J., Canto-Flick, A., Balam-Uc, E., Gómez-Uc, E., L-Robert, M., Iglesias-Andreu, L. G., Santana-Buzzy, N. (2010). Improvement of *in vitro* proliferation and elongation of habanero pepper shoots (*Capsicum chinense* Jacq.) by temporary immersion. *Hortscience*, 45(7):1093-1098. DOI: 10.21273/HORTSCI.45.7.1093.
- Bello-Bello, J. J., Martínez-Estrada, E., Caamal-Velázquez, J. H. and Morales-Ramos, V. (2016). Effect of LED light quality on *in vitro* shoot proliferation and growth of vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews). *African Journal of Biotechnology*, 15(8):272-277. DOI: 10.5897/AJB2015.14662.
- Bello-Bello, J., Poot-Poot, W., Iglesias-Andreu, L., Caamal-Velázquez, H., Díaz Sánchez, M. (2014). Comparación del efecto de osmorreguladores e inhibidores del crecimiento en la conservación *in vitro* de caña de azúcar. *AGROCIENCIA*, 48: 439-446.
- Bello-Bello, J. J. y Spinoso-Castillo, J. L. (2023). Utilización de nanopartículas de plata en la micropropagación de plantas. *Mundo Nano*, 16(30):1e-14e. DOI: 10.22201/ceiich.24485691e.2023.30.69692.
- Blanco-Valdés, Y. (2019). Importancia de la calidad de la luz entre las plantas arvenses-cultivo. *Cultivos Tropicales*, 40(4).
- Casierra-Posada, F. y Rojas B., J. F. (2009). Efecto de la exposición del semillero a coberturas de colores sobre el desarrollo y productividad del brócoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*). *Agronomía Colombiana*, 27(1):49-55. ISSN: 0120-9965.

- Criollo-Chan, M. A., Osnaya-Gonzalez, M. L., Robledo-Paz, A., Monsalvo-Espinosa, J. A., Echeverría-Echeverría, S. T., Alamilla-Magaña, J. C., Caamal-Velázquez, J. H. (2016). Reducción de costos en la micropropagación de caña de azúcar (*Saccharum* spp.). *Agroproductividad*, 9(7):18-22.
- Domínguez-Rosales, M. S., Alpuche-Solís, A. G., Vasco-Méndez, N. L., Pérez-Molphe, B. E. (2008). Efecto de citocininas en la propagación *in vitro* de agaves mexicanos. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 31(4):317-322.
- Figueroa-Rodríguez, K. A., García García, A. M. T., Mayett Moreno, Y., Hernández Rosas, F. y Figueroa Sandoval, B. (2015). Factores que explican el rendimiento de caña de azúcar a nivel municipal en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(6):1345-1358.
- Folta, K. M., & Childers, K. S. (2008). Light as a Growth Regulator: Controlling Plant Biology with Narrow-bandwidth Solid-state Lighting Systems. *HortScience horts*, 43(7):1957-1964.
- Hernández-Pérez, C.A., Gómez-Merino, F.C., Spinoso-Castillo, J.L., Bello-Bello, J. J. (2021). *In Vitro* Screening of Sugarcane Cultivars (*Saccharum* spp. Hybrids) for Tolerance to Polyethylene Glycol-Induced Water Stress. *Agronomy*, 11, 598. DOI: 10.3390/agronomy 11030598.
- Jiménez, E., Pérez, J., Gil, V., Herrera, J., García, Y. y Alonso, E. (1995). Sistema para la propagación de la caña de azúcar. En: Estrada M., Riego E., Limonta E., Téllez P., Fuente J. (Eds). *Avances en Biotecnología Moderna. Elfos Scientiae*. Cuba, 3:11.2.
- Johkan, M., Shoji, K., Goto, F., Hashida, S., Yoshihara, T. (2012). Effect of green light wavelength and intensity on photomorphogenesis and photosynthesis in *Lactuca sativa*. *Environ. Exp. Bot.*, 75:128–133.
- Kumar, P. P., Lakshmanan, P., Thorpe, T. A. (1998). Regulation of morphogenesis in plant tissue culture by ethylene. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*, 34:94-103. DOI: 10.1007/BF02822771.
- Li, H. M., Tang, C. M., Xu, Z. G., Liu, X. Y., Han, X. L. (2012). Effects of different light sources on the growth of non-heading Chinese cabbage (*Brassica campestris* L.). *J. Agric. Sci.* 4(4):262-273.
- Li, H. M., Tang, C., Xu, Z. (2013). The effects of different light qualities on rapeseed (*Brassica napus* L.) plantlet growth and morphogenesis *in vitro*. *Sci. Hortic.*, 150:117-124.

- Lin, Y., Li, J., Li, B., He, T., Chun, Z. (2011). Effects of light quality on growth and development of protocorm-like bodies of *Dendrobium officinale* *in vitro*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 105(3):329-335.
- Lofton, J.; Tubana, B. S.; Kanke, Y.; Teboh, J.; Viator, H. and Dalen, M. (2012). Estimating sugarcane yield potential using an in-season determination of normalized difference vegetative index. *Sensors.*, 12(6):7529-7547.
- Mancilla-Álvarez, E.; Pérez-Sato, J. A.; Núñez-Pastrana, R.; Spinoso-Castillo, J. L.; Bello-Bello, J. J. (2021). Comparison of Different Semi-Automated Bioreactors for In Vitro Propagation of Taro (*Colocasia esculenta* L. Schott). *Plants*, 10,1010. DOI: 10.3390/plants10051010.
- Martínez-Estrada, E., Caamal-Velázquez, J. H., Morales-Ramos, V. and Bello-Bello, J. J. (2016). Light emitting diodes improve *in vitro* shoot multiplication and growth of *Anthurium andreanum* Lind. *Propagation of Ornamental Plants*. 16(1):3-8.
- Martínez-González, E., Muñoz-Márquez, D. B., de la Rosa-Hernández, M., P., Aguilar-Zárate, P., Reyes-Luna, C., Ramírez-Cathí, H., & Wong-Paz, J. E. (2019). Estudio de factores que influyen en la producción de piloncillo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) empleando un diseño de Plackett Burman. *Acta Universitaria* 29, e2188. DOI: 10.15174.au.2019.2188.
- Martínez Rivero, A., Ramírez-Mosqueda, M. A., Mosqueda, F. O., Rivas, P. M., & Bello-Bello, J. J. (2020). Influence of Vitrofur® on sugarcane micropropagation using temporary immersion system. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture*, 141(2):447-453. DOI: 10.1007/s11240-020-01800-x.
- McCoshum, S., & Kiss, J. Z. (2011). Green light affects blue-light-based phototropism in hypocotyls of *Arabidopsis thaliana*. *The Journal of the Torrey Botanical Society*, 138(4):409–417. <http://www.jstor.org/stable/41475107>.
- Montemayor-Trejo, J. A., Suárez-González, E., Munguía-López, J. P., Segura-Castruita, M. A., Mendoza-Villarreal, R. y Woo-Reza, J. L. (2018). Acolchados plásticos para la producción de maíz (*Zea mays* L.) forrajero en la Comarca Lagunera. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (20):4107-4115.
- Murashige T., Skoog F. (1962). A revised médium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant*, 15:473-497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.

- Neumann, K. H., Kumar, A. & Imani, J. (2020). Plant Cell and Tissue Culture – A Tool in Biotechnology: Basics and Application. DOI: 10.1007/978-3-030-49098-0.
- Nishimura, T., Ohyama, K., Goto, E. y Inagaki, N. (2009). Concentrations of perillaldehyde, limonene, and anthocyanin of *Perilla* plants as affected by light quality under controlled environments. *Scientia Horticulturae*, 122(1):134-137. DOI: 10.1016/j.scienta.2009.03.010.
- Ochoa-Alejo, N. y Ramírez-Malagón, R. (2001). *In vitro* chili pepper biotechnology. *In Vitro Cell Dev. Biol.-Plant.*, 37:701-729. DOI: 10.1007/s11627-001-0121-z.
- Perales, A. L., Silos, E. H., Lorenzo, V. L., Perales, S. C. y Flores, B. S. (2016). Propagación *in vitro* de guayaba (*Psidium guajava* L.) a partir de segmentos nodales. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.*, 7(2):375-386.
- Pérez-de-León, A. V., Caamal-Velázquez, J. H., Alamilla-Magaña, J. C., Criollo-Chan, M. A., Chanatasig-Vaca, C. I., Garruña-Hernández, R. (2020). Alternativas innovadoras en la micropropagación de agaves mezcaleros. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 24(71):41-48. ISSN 2007-0977.
- Ramos González, Y. y Ramírez Lasso, E. (2016). Desarrollo de un sistema de iluminación artificial LED para cultivos en interiores - Vertical Farming (VF). *Informador Técnico*, 80(2):111-120. DOI: 10.23850/22565035.480.
- Rangel-Estrada, S. E., Hernández-Meneses, E. y Hernández-Arenas, M. (2016). Micropropagación de variedades de caña de azúcar cultivadas en México. *Rev. Fitotec. Mex.*, 39(3):225 – 231.
- Reuveni, M. y Evenor, D. (2007). On the effect of light on shoot regeneration in petunia. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 89(1):49-54.
- Sabater, F. (1977). La luz como factor ambiental para las plantas. *Anales de la Universidad de Murcia*. 31:1-24.
- Santillán-Fernández, A., Santoyo-Cortés, V. H., García-Chávez, L. R. y Covarrubias-Gutiérrez, I. (2014). Dinámica de la producción cañera en México: Período 2000 a 2011. *Agroproductividad*, 7(6):23-29.
- Shin, S. K., Murthy, N. H., Heo, W. J., Hahn, J. E., Paek, Y. K. (2008). The effect of light quality on the growth and development of *in vitro* cultured *Doritaenopsis* plants. *Acta Physiol. Plant.*, 30(3):339-343.

Tadeu Dias, João Paulo, & da Silva, Maria Aparecida. (2020). Effect in greenhouse of commercial biostimulant on sugarcane seedlings growth. *Biotechnología Vegetal*, 20(1), 23-31.

Valade, A., Ciaís, P., Vuichard, N., Viovy, N., Huth, N., Marin, F. and Martiné, J. F. (2014). Modeling sugar cane yield with a processbased model from site to continental scale: uncertainties arising from model structure and parameter values. *Geoscientific Model Development*, 7(1):1197-1244. DOI: 10.5194/gmd-7-1225-2014.

Vásquez-Hernández, Sugely; Cruz-Cruz, Carlos A.; Santiago-Santiago, Maricela; Bello-Bello, Jericó Jabín. (2021). Evaluation of different antioxidants during *in vitro* establishment of allspice (*Pimenta dioica* L. Merrill): a recalcitrant species. *Agro Productividad*. DOI: 10.32854/agrop.v14i11.2167.

Wang, Y. y Folta K. M. (2013). Contributions of green light to plant growth and development. *American Journal of Botany*, 100(1): 70-78. DOI: 10.3732/ajb.1200354.

Zhang T., y Folta, K. M. (2012). Green light signaling and adaptive response. *Plant Signaling & Behavior*, 7(1): 1-4. DOI: 10.4161/psb.7.1.18635.