

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL



**Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral
Regional, Unidad Oaxaca**

Maestría en Ciencias en Conservación y
Aprovechamiento de Recursos Naturales
Protección y Producción Vegetal

**EFECTO DE LA LUZ ARTIFICIAL EN EL CRECIMIENTO Y CONTENIDO DE
FRUCTANOS EN PLANTAS JÓVENES DE AGAVE POTATORUM ZUCC**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

HUGO LUIS DE LOS SANTOS LÓPEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. GABINO ALBERTO MARTINEZ GUTIERREZ

Santa Cruz, Xoxocotlán, Oaxaca, México, 2019.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Oaxaca el día 26 del mes de junio el año 2019, el (la) que suscribe **De los Santos López Hugo Luis** alumno(a) del Programa de Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales con número de registro B170589, adscrito a Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Oaxaca, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez y cede los derechos del trabajo intitulado **Efecto de la luz artificial sobre el crecimiento y contenido de fructanos de Agave potatorum Zucc.**, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección luisdelosanto75@hotmail.com Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


Hugo Luis de los Santos
Nombre y firma


CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.D.I.R.
UNIDAD OAXACA
IPN.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Oaxaca siendo las 14:00 horas del día 14 del mes de junio del 2019 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR OAXACA para examinar la tesis titulada:
Efecto de la luz artificial sobre el crecimiento y contenido de fructanos de *Agave potatorum* Zucc.

Presentada por el alumno:

De los Santos López
Apellido paterno Apellido materno
Nombre(s) Hugo Luis

Con registro:

B	1	7	0	5	8	9
---	---	---	---	---	---	---

Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales

Después de intercambiar opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Director(a) de tesis

Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez

Dr. Cironio Escamirosa Tinoco

Dr. Isidro Morales García

Dr. José Raymundo Enríquez del Valle

Dra. Patricia Araceli Santiago García

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE
PROFESORES

Dr. Salvador Isidro Belmonte Jiménez



CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
CIUDAD OAXACA
IPN

Dedicatoria:

A mi madre Consuelo López Gil, y a todas y todos aquellos que de alguna manera participaron en el desarrollo de esta Tesis.

AGRADECIMIENTOS

A mi madre, por sus consejos y su ánimo.

Al Dr. Gabino por su apoyo y por creer en mí para llevar a cabo este innovador tópico de Tesis.

Al Dr. Raymundo, por su paciencia y las clases otorgadas.

A las Dras. Anne Gschaedler y Rosa Camacho por su ayuda para la cuantificación de fructanos

Al Dr. Cirenio por el soporte del sistema (HOB0).

Y a todas y todos aquellos que apoyaron de alguna forma el proyecto.

Al CIIDIR IPN OAXACA. Por las oportunidades que me brindó para estudiar la maestría y la estancia en Europa.

Al CONACYT por las becas otorgadas.

CONTENIDO

Portada.....	1
Acta de Revisión de Protocolo.....	2
Resumen.....	3
1 Objetivo General.....	4
1.1 Objetivo Específico.....	4
2. Hipótesis.....	5
3. Introducción.....	6
4. Antecedentes.....	9
4.1 Historia.....	9
4.2 <i>Agave Potatorum</i>	9
4.3 Fotosíntesis.....	11
4.4 Fotoperíodo.....	13
4.5 Fotomorfogenesis.....	13
4.6 Luz Artificial en plantas.....	15
4.7 Fructanos en el Agave.....	16
5. Materiales y Métodos.....	17
6. Resultados y Discusión.....	22

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.....	25
Cuadro 2.....	31
Cuadro 3.....	33
Cuadro 4.....	36
Cuadro 5.....	38
Cuadro 6.....	41
Cuadro 7.....	42
Cuadro 8.....	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.....	14
Figura 2.....	21
Figura 3.....	23
Figura 4.....	25
Figura 5.....	27
Figura 6.....	38

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1.....	33
Gráfica 2.....	44

Resumen

En este estudio se evaluó el efecto de la luz LED (Diodo Emisor de Luz) en el crecimiento y contenido de fructanos en el tallo, de plantas de *A. potatorum*, que a partir de 1.5 años de edad, se establecieron en macetas con un sustrato compuesto con vermiculita y turba 50/50 v/v y que durante 9 meses se sometieron a iluminación de calidad diferente: 1) azul; 2) rojo; 3) combinación rojo y azul. Las iluminaciones (tratamientos) 1, 2 y 3 se aplicaron a $74 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, en fotoperiodo de 12 horas y 12 h de oscuridad, en condición de laboratorio, Un grupo fue de plantas en invernadero expuestas a radiación solar a $74 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fotoperiodo natural. Las variables respuesta evaluadas son altura de la planta, diámetro de roseta, número de hojas desplegadas, caracterización de luz, clorofila *a* y *b*, carotenoides, microscopia óptica Confocal en las hojas y contenido de fructanos en el tallo mediante la técnica de cromatografía líquida de alta eficiencia con la columna de exclusión de partículas (HPLC–SEC), se hicieron cada 3 meses durante 9 meses. Los datos sometidos a análisis de varianza y pruebas de Tukey ($\alpha = 0.05$), mostraron que las plantas que se expusieron a iluminación roja+ azul, generó los valores más altos de clorofila *a* con $.80 \text{ mg/gPF}$ y *b* con $.32 \text{ mg/gPF}$, y clorofilas totales con $.94 \text{ mg/g}$ de PF. Así como la mayor intensidad en α caroteno con 1375.7 au y 2227.7 au en β caroteno. En las hojas de plantas expuestas a luz azul se les contabilizó mayor cantidad de células, $95 \text{ células en } 1600\mu\text{m}^2$ también la mayor cantidad de fructanos de cadena larga, mayor peso molecular, mayor sacarosa, glucosa y fructosa y mayor grado de polimerización promedio. Las hojas de plantas expuestas a luz roja tuvieron mayor cantidad de fructanos de cadena larga, menor peso molecular y menor grado de polimerización.

Palabras clave: LED, fructanos, *Agave potatorum*, HPLC-SEC.

ABSTRACT

In this study it was evaluated the effect of the LED (Diode Emission of Light) in the growth y content of fructans of stem of plants of *A. potatorum* Zucc of 1.5 years of eage, which were transplanted in pots with vermiculite and turbe in relation 50/50 v/v. The evaluated colors were blue, rojo and the mixture of red and blue. Each color of light was a treatment by itself was distribuited in a three stores compartments and dark ambiens under a random arrangement. The tested responses were height of plant, diameter of rosette, number of leaves deployed, characterization of light, *a* and *b* chlorophyll, carothenoids, confocal optic microscopy in leaves of *A. potatorum* and content of fructans in the stem, extraction in Size exclusion chromatography (HPLC-SEC) they were taken everyday three months during nine months. The data was submitted to analysis of variance and Tukey pruebe ($\alpha = 0.05$), it showed that the mixture lights of red and blue, generated the higher values *a* and *b* chlorophyll, higher quantity of cells en leaves, according to solar witness. The light blue promovided the higher quantity of fructans of long chain, higher molecular weight, higher sacarose and higher degree average polymerization. The red light generated the higher quantity of fructans of short chain, less molecular weight and less degree polymerization.

Keywords: LED, fructans, Agave potatorum, HPLC-SEC.

I INTRODUCCIÓN

El *Agave potatorum* Zucc se conoce regionalmente como “tobalá” en lengua zapoteca o “papalome”, en lengua mixteca. Es originario de México, crece principalmente en los estados de Oaxaca, Puebla y Guerrero. Crece en ambientes ubicados en altitudes que varían en el rango de 1,300 a 2,400 m.s.n.m (García-Mendoza *et al* 2010). El *A. potatorum* contiene azúcares (fructanos) usados como materia prima para elaborar la bebida destilada denominada mezcal, además de prebióticos y potenciales aplicaciones como biofarmacos a la salud humana (López *et al* 2010). La vía fotosintética CAM fija el CO₂ por la noche con el uso de la enzima PEPC (Fosfoenol piruvato carboxilasa), y sintetiza el ácido málico. Durante el día, en presencia del sol, se libera el ácido málico y el CO₂ de las vacuolas, para incorporarse al ciclo de Calvin-Benson (Andrade *et al* 2007). Y posterior a ello la generación de fructanos (López *et al*).

En la fotosíntesis, las clorofilas a y b absorben fuertemente la luz en un rango de 663-642nm, correspondiente a la luz roja y la luz azul entre 430-453 nm (Wright *et al* 1984). Un estudio en que plantas de fresa (*Fragaria.spp*) fueron expuestas a iluminación con luz LED (Diodo de Emisor de Luz) con longitudes de onda de 400nm similares a intensidades de 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ mostró que las fresas experimentaron una mayor tasa de fotosíntesis a 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de intensidad luminosa (Hidaka *et al* 2013).

El presente trabajo es el primer estudio que documenta el efecto de estas longitudes de onda en un *Agave.spp*.

II REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Historia

Los usos del *Agave.spp* datan desde la época precolombina como fuente de bebidas fermentadas con fines ceremoniales, para el esparcimiento, medicina, gastronomía y como un referente cultural. El *Agave salmiana* posee el registro arqueológico más antiguo. Tales registros evidencian que los habitantes del Valle de México utilizaban dicha planta (Gentry *et al.*, 1982). *Agave* es el nombre científico que le dio al maguey el naturalista sueco Carlos de Linneo, el padre de la taxonomía, a mediados del siglo XVIII, en alusión a una ferviente seguidora del dios Dionisio, de la mitología griega (García-Mendoza *et al.*, 2013). Este vocablo grecolatino, describe su apariencia, la longitud y floración que ocurre solo una vez en su vida de la planta para después morir.

2.2 *Agave potatorum* Zucc

El *Agave potatorum* Zucc, es una especie mexicana poco estudiada de alto valor cultural y económico. Se emplea principalmente para elaborar mezcal y está sujeta a una constante extracción sin un manejo que busque la permanencia a futuro de sus poblaciones (García-Mendoza *et al* 2012). Esta especie al igual que las demás especies de *Agave.spp* presenta un metabolismo de ácido crasuláceo (CAM). Esta ruta metabólica le permite sobrevivir en ambientes áridos en condiciones de sequía y estrés donde las plantas tipo C3 no pueden tolerar.

Las plantas CAM evolucionaron para reducir la pérdida de agua por transpiración, al abrir los estomas para la asimilación de CO₂ durante la noche. Esto se debe a la diferencia de concentración de vapor de agua entre el tejido foliar y el ambiente circundante es menor (López-

Munguía *et al.*, 2013). Sin embargo, se alcanza un balance positivo, la pérdida de agua por transpiración por parte de la planta sucede por la noche, mientras que la toma de agua, a través de las raíces ocurre durante las 24 horas del día (Chazaro-Basañez *et al* 2007). También, las plantas CAM se caracterizan por poseer órganos, tallos, hojas suculentos, que almacenan grandes volúmenes de agua durante las temporadas en que está disponible en el ambiente, y esta reserva la utiliza durante la temporada de sequía.

Durante la noche la apertura de los estomas permite la difusión de CO_2 que se fija como HCO_3^- por la anhidrasa carbónica. Después, la enzima Fosfoenol Piruvato Carboxilasa PEPC lo absorbe, lo incorpora en ácidos C_4 que se acumulan en las vacuolas vía una bomba de membrana ATP dependiente. Durante el día los estomas cierran y los ácidos C_4 son llevados al citoplasma, a través de un mecanismo aparentemente pasivo, en donde son descarboxilados (Shimizu *et al* 2015).

La ventaja más significativa de las plantas CAM sobre las C_3 y C_4 , es que la fotosíntesis continúa durante los extensos períodos de sequía que pueden causar un cese completo de actividad fotosintética en plantas C_3 y restringir severamente la fijación de CO_2 en plantas C_4 (Hopkins *et al.*, 1995).

2.3 Fotosíntesis

Todos los organismos con capacidad fotosintética contienen uno o más pigmentos capaces de absorber radiación que desencadenan las reacciones fotoquímicas de la fotosíntesis (Lira *et al.*, 2007). La fotosíntesis es un proceso que ocurre en 2 fases como se muestra en la figura 1. La primera fase es un proceso que depende de la luz, ya que se necesita energía directa de la luz para producir energía química y reductora para ser aplicadas en la segunda fase. La fase oscura o

independiente de luz, se ejecuta cuando los productos de las reacciones de luz son aplicadas para formar enlaces covalentes Carbono-Carbono (C-C), de los carbohidratos mediante el ciclo de Calvin-Benson. Este proceso se realiza en los cloroplastos de las células (Shimizu *et al.*, 2015).

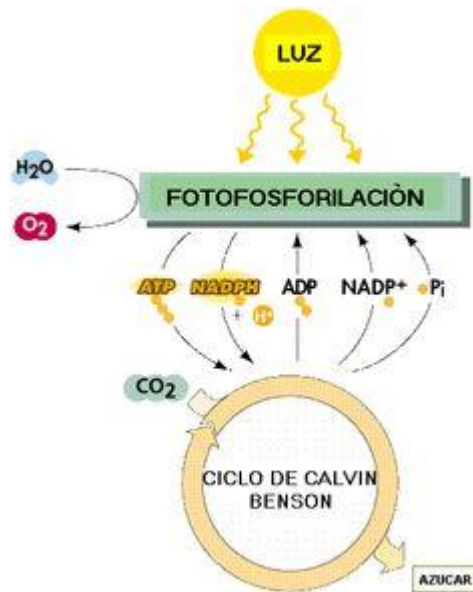


Figura 1. Proceso de fotosíntesis.

Fuente:

En el caso del Agave, acumula CO₂ durante la noche para su uso en el día en la fotosíntesis y así conservar el agua acumulada en las hojas. Durante el día se producen temperaturas muy altas que exponen a las plantas a una pérdida de agua muy alta, a través de los estomas abiertos, con respecto a la pérdida que se da por la noche. De esta forma la ruta metabólica CAM es crucial para la conservación de agua de la mayoría de las agaváceas y cactáceas (Nobel *et al.*, 2008). En teoría las plantas CAM funcionan con esta vía fotosintética estando en condiciones de estrés y cambian a la vía metabólica (C₃) si no existen tales condiciones limitantes (Pedroza *et al.*, 2006). En época de lluvias y con temperaturas bajas, la mayoría de las plantas CAM toman el CO₂ a

través de los estomas abiertos durante el día. El CO₂ adquirido durante el día lo fija la RUBISCO al igual que se fija el CO₂ que toman las plantas C3 durante el día (Nobel *et al.*, 2008).

2.4 Fotoperiodo

El cambio de las estaciones afectan a las plantas, en la medida que sean capaces de detectar cambios en la intensidad y en la composición de la luz, así como en la cantidad de horas de iluminación, se verán favorecidas (Curtis *et al.*, 2009). Sobretudo, aquellas capaces de detectar el fotoperiodo, en otras palabras, el número de horas de luz, en cada ciclo de 24 horas. A esto se le denomina fotoperiodicidad. Existe una estrecha relación entre la floración y la fotoperiodicidad, de acuerdo a esta relación las plantas pueden agruparse en tres categorías: plantas de días cortos, largos y neutros (Curtis *et al.*, 2009). Las plantas de días cortos florecen a principios de primavera o en el otoño. Como por ejemplo el arándano, la ambrosía y la fresa (Curtis *et al.*, 2009). Las plantas de días largos florecen solo si los períodos de luz son más largos que el período crítico, principalmente en verano. Por ejemplo, la lechuga, la espinaca, las papas y los agaves, en promedio 14 horas al día (Curtis *et al.*, 2009).

Las plantas neutras florecen independientemente del fotoperiodo.

2.5 Fotomorfogénesis

La adaptación a la luz intensa, altas temperaturas y a ambientes áridos en donde generalmente habitan las plantas CAM facilita la absorción de agua y nitrógeno. Esta adaptación también indica que la evolución le ha provisto de sofisticados mecanismos de sensibilidad, dando lugar a un proceso que se conoce como fotomorfogénesis, para capturar luz más eficientemente y adaptar su ciclo de vida a cambios climáticos (Posada *et al.*, 2011). La fotomorfogénesis es el control de la

morfogénesis por medio de la luz y ocurre a través de los siguientes fotoreceptores: fitocromo que absorbe la luz del rojo y rojo lejano (600-800 nm); criptocromo con pigmentos que absorben longitudes de onda del azul y ultravioleta de onda larga (UV-A de 320 a 480 nm), fotoreceptor UV-B, absorbe radiación ultravioleta con longitudes de onda entre 280 y 320 nm y la fotoclorofila a, que es un pigmento que absorbe la luz roja y azul y que una vez reducido da clorofila a (Briggs *et al.* , 2008). Dentro de los efectos que distintas longitudes de onda de la porción visible del espectro electromagnético tienen sobre las respuestas fisiológicas de las plantas, se encuentran los máximos de respuesta fotosintética para las longitudes de onda de 440 y 680 nm, que corresponden al azul es la que absorbe más rápidamente los carotenos y es fundamental en la fase de crecimiento vegetativo de hojas y tallos-, mientras que en la fase de crecimiento generativo, se da el desarrollo de flores y frutos en la radiación roja (Briggs *et al.*, 2008b). Se han efectuado experimentos con *Agave americana* al exponerlas a iluminación con lámparas de bajo consumo de energía con luz fluorescente, para estudiar su desarrollo bajo esta luz, donde se ha demostrado que esta luz es poco eficiente para la planta porque provee poca energía e el color rojo y azul, de espectro de luz y por lo tanto poco eficientes para activar el sistema fotosintético, debido a que el fitocromo junto con otros receptores controla el proceso de crecimiento vegetativo, dando una pobre morfogénesis (Sharry *et al.*, 2010).

2.6 Luz artificial en plantas

Hoy en día, en la agricultura hay una tecnología reciente denominada iluminación por luz LED (Diodo Emisor de Luz), que se está escalando a rápidas tasas de crecimiento, debido a sus resultados. Una prueba de ellos la tenemos en la fresa que ha sido cultivada hidropónicamente bajo luz azul, luz roja y rojo lejano. La cual muestra que la luz azul en el proceso vegetativo

generó desarrollos más rápidos de la planta y que una vez que inicio la floración, la mejor luz fue la luz roja acompañada de rojo lejano. Las plantas expuestas al arreglo de luz roja-rojo lejano, ¿sus frutos? tuvieron mayor concentración de azúcares (Hyo *et al.*, 2015). Asimismo, plantas de lechuga que fueron expuestas a un arreglo similar de luces LED azul en el espectro de los 420-400 nm, ¿sus hojas? mostraron un considerable incremento de antioxidantes respecto a las plantas expuestas a luz roja (Wojciechowska *et al.*, 2015). Debido a estas evidencias en el presente trabajo se propone el uso de luz LED, para evaluar su efecto en el *Agave potatorum* y su posible incremento de azúcares (fructanos) contenidos en la piña.

2.7 Fructanos en Agave

Los fructanos son azúcares no reductores formados de unidades fructosil, presentando generalmente en su estructura una molécula de glucosa terminal, derivados de la fotosíntesis, se almacenan en los tallos principalmente como una reserva de energía (Franco-Robles *et al* 2015). Los fructanos se aislaron por primera vez en 1804 por el científico alemán Rose a partir de un extracto de *Inula helenium* como una sustancia soluble que precipita con alcohol. Thomson en 1818 denominó inulina a esta sustancia. Las principales familias vegetales que sintetizan fructanos como carbohidratos de reserva son la Liliace, Amaryllidaceae, Graminae, Poaceae, Solanaceae, Asteraceae y Agaveceae. Siendo la achicoría (*Cichorium intybus*) y alcachofa de jerusalem (*Helianthus tuberosas*), las más utilizadas en nivel industrial (Mellado-Mojica *et al.*, 2013). La figura 2 muestra la estructura de la inulina. Recientemente, se ha reportado que los fructanos de *Agave tequilana* Weber var. Azul, en plantas de 2 a 5 años son principalmente fructoligosacaridos, y las plantas de de 6 a 7 años almacenan principalmente agavinas, que son fructanos de cadena larga (Mellado-Mojica *et al.*, 2012).

III JUSTIFICACIÓN

Desde hace 10 años, los *Agaves.spp* despertaron el interés por los fructanos acumulados en el tallo, debido a las diversas aplicaciones que van desde materia prima de bebidas espirituosas, sustituto de grasas en alimentos, control de peso, estabilidad del pH del estómago, coadyuvando en la regeneración de los huesos y prevención del cáncer (López *et al.*, ¿año?). Sin embargo, la cantidad máxima de acumulación de estos polisacáridos, se lleva a cabo hasta que la planta alcanza su madurez reproductiva (Martínez *et al.*, 2008), dicho proceso tarda al menos 6 años.

IV. OBJETIVOS E HIPOTESIS

4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de colores de luz artificial (LED) Diodo Emisor de Luz en plantas jóvenes de *Agave potatorum* Zucc, en el crecimiento y contenido de fructanos del tallo, para acortar el tiempo de crecimiento de la planta.

4.2 Objetivo Específico

Evaluar variables respuesta y contenido de fructanos del tallo de *Agave potatorum* Zucc. que sean expuestas a iluminación LED de longitudes de onda diferentes, Roja+Azul, Azul, Roja y Testigo expuesto a radiación solar.

4.3 Hipótesis

Al menos uno de los colores de luz artificial LED aumenta el crecimiento del tallo y aumenta el contenido de fructanos de plantas jóvenes de *Agave potatorum* Zucc.

V. Materiales y Métodos

5.1 Obtención del material biológico

El experimento se llevó a cabo en el laboratorio de micropropagación vegetal del Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca (ITVO), en Nazareno, Santa Cruz Xoxocotlán, (17° 1'34' de latitud norte 96° 43'58' de latitud Oeste, a 1536 m.s.n.m).

5.2 Material vegetal y sustrato

Las plantas utilizadas fueron de *Agave potatorum* Zucc, de 15 a 25 cm de diámetro de roseta con una variación de 10 cm de diámetro hasta la espina de la hoja. Las plantas fueron obtenidas de manera in-vitro, por el Dr. Jose Raymundo Enríquez Del Valle, un año y medio antes de iniciar este experimento. Posteriormente se trasplantaron en bolsas de polietileno negro de 2000 cm³ conteniendo como sustrato la mezcla 50-50% Volumen/Volumen (v/v) de turba de musgo-perlita, respectivamente. Estas plantas fueron extraídas de las bolsas y a raíz desnuda (Figura 2), se trasplantaron en macetas de 2,424 cm³, con sustrato 50% vermiculita y 50% turba (v/v), previo al trasplante se sumergieron durante 10 minutos en caldo bordelés, en una proporción 2:1 (Pimienta-Barrios *et al.*, 2009). Antes de ser sometidas al ensayo experimental, cada planta fue regada manualmente con 50 mL de agua, una vez por semana, durante los dos meses previos al ensayo.



Figura 2. *A. potatorum* Zucc, a raíz desnuda para ser trasplantadas en macetas

El total de 72 plantas *A. potatorum* Zucc, se separaron en cuatro grupos de 18 plantas. La nutrición de las plantas se llevó a cabo con el producto de nombre comercial Guanomed® en dosis de 6mL por cada 100mL. Este producto contiene en % en peso .33% de N(Nitrógeno), .11% de P_2O_3 (Óxido de Fosforo), .10% como K_2O (Óxido de potasio), .06% (B) Boro, .01% de Cu (Cobre), 0.026% de Fe (Hierro), .30% de $C_9H_9NO_6$ (ácidos húmicos), .15% (ácidos fúlvicos),

.11% Ca (Calcio), 0.0016% Mn (Manganeso), 0.015% de Mg (Magnesio) y 0.005% Zn (Zinc), esta operación se repitió cada 10 días.

5.3 Contenedores y tratamientos

La unidad experimental fue una planta y se tuvieron 18 repeticiones por tratamiento, con un total de 72 plantas. El experimento se estableció de acuerdo a un diseño completamente al azar. Los primeros tres grupos de plantas de agave, fueron colocadas en ambiente de laboratorio, en compartimentos de 3 niveles, cada nivel tiene 1.5 x 1.20 x 0.80 m de ancho, largo y alto respectivamente, delimitados por paredes de cartón cubiertas de una película reflejante de aluminio y enumeradas con etiquetas de acuerdo a cada tratamiento. En la parte superior de cada nivel se colocó un sensor marca HOBO, con capacidad de almacenamiento de 84,500 registros (HOBO BOX CAR PRO) para registrar la temperatura, punto de rocío y humedad relativa. Estos datos fueron adquiridos semanalmente con el software HOBOWARE para su análisis. Similar a un arreglo utilizado en fresa (*fragraria.spp*), bajo luces artificiales, (----- *et al.*, 2015) como se muestra en la figura 2.



Figura 2 Arreglo de plantas de fresa (*Fragaria.spp*) bajo luces artificiales (Tomado de ----, año)

Fuente: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii>

Las plantas de cada compartimento fueron expuestas a diferentes colores de luz de radiación luminosa de diferente calidad: 1) combinación de lámparas LED de luz (Roja+Azul) de 30 watts, a $74 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$; 2) lámpara LED de luz azul a $74 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 3) lámpara LED de luz roja a $74 \text{ mol } \mu\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Cada color fue un tratamiento, la unidad experimental fue cada planta y se tuvieron 18 repeticiones por tratamiento. En el cuadro 1 muestra la distribución de tratamientos. El fotoperiodo fue de 12 h de luz y 12 h de oscuridad, controlado por un temporizador electrónico

de 8 eventos adaptado a un regulador de corriente. El cuarto grupo de plantas se colocó a cielo abierto como testigo, expuestas a radiación solar, fotoperiodo natural e irradiancia a medio día hasta $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Chan *et al.*, 2016).

Cuadro 1 Distribución de tratamientos

Calidad de Luz	Cantidad de plantas
Roja+Azul (T1)	18
Azul (T2)	18
Roja (T3)	18
Testigo (T4)	18

Variables respuesta. Al inicio de la siembra en cada planta se midió la hoja más grande, en su anchura y longitud, altura de cada cogollo, diámetro de roseta y cantidad de hojas desplegadas. Este proceso se repitió cada 30 días, hasta completar los 9 meses, los datos se ingresaron en el programa SAS (SAS Institute 2010), a fin de obtener la varianza y promedio de las variables en cada uno de los 4 tratamientos. Posteriormente se graficaron los resultados en Microsoft Excel 2010.

5.4 Extracción y cuantificación de clorofila

Transcurridos los 270 días, de cada tratamiento se tomaron 3 plantas, en total 12 plantas por los cuatro tratamiento, se midieron las hojas, se determinó la ¿hoja? más ancha de cada unidad ¿experimental?, se identificó el centro del haz de la hoja, y se cortó un cuadrado de 2 x 2 cm, se pesó en la balanza analítica hasta obtener una muestra con el peso de 1 g y 0.05 cm de grosor (Figura 4). En un mortero se maceró cada muestra con 50 mL de acetona aforada al 80% con agua destilada, en un ambiente oscuro, el extracto se filtró con papel filtro whatman número 12y

posteriormente se aforó a 50 mL con acetona 80%, y se colocó en un tubo Falcon Venturi cubierto de papel aluminio, para ser refrigerados hasta su medición de absorbancia a 645 nm, 663 nm y 652 nm en el espectrofotómetro UV-UV-VIS (Shimadzu UV-1800). Siguiendo la metodología propuesta por Bright (1980).



Figura 4. Pesaje de la muestra

Los tubos falcon se insertaron en la centrifuga Fujitsu con capacidad de 4000 rpm durante 10 minutos, se retiraron y de cada tubo se extrajo el material suficiente para vertirse en la cubeta, con el blanco instalado en la segunda cubeta. Se encendió el equipo y se escogió la instrucción 1. Photometric y se corrieron las muestras en bloques a 663 nm, 652 nm y 645 nm y colocados en el equipo con el blanco previamente incorporado. Con los datos obtenidos de absorbancia se calculó el contenido de clorofila a, b y a+ b de acuerdo a la ecuación de Arnold (1932).

Clorofila a: $\text{mg/g hoja} = [(12.7 \times A_{663}) - (2.6 \times A_{645})] \times \text{mL de acetona} / \text{mg de tejido vegetal}$

Donde

12.7 y 2.6 son constantes

A_{663} y A_{645} son las lecturas de absorbancia a las longitudes de onda de 663 nm y 645 nm.

Clorofila b = mg/g hoja = $[(22.9 \times A_{645}) - (4.68 \times A_{663})] \times \text{mL}$ de acetona/mg de tejido vegetal.

Cl a + b = $(27.8 \times A_{652}) \times \text{mL}$

Esta operación se repitió nuevamente a los 6 y 9 meses.

5.5 Determinación de Carotenoides

La espectroscopia Raman es una técnica útil para determinar la huella digital de prácticamente cualquier molécula orgánica o inorgánica desde $500\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$ (Swiss *et al.*, 2013). Los espectros Raman son la expresión gráfica del choque inelástico producto de la interacción de las moléculas con un haz láser representados en número de ondas o desplazamiento Raman (Dewar *et al.*, 2005).

La determinación de carotenoides se realizó a los 9 meses, de acuerdo al procedimiento descrito por Schkoll (1992). Se tomaron las hojas más anchas de las tres plantas, unidades experimentales, de los cuatro tratamientos y se colocaron una por una frente al láser del espectroscopio Raman (Ocean Optics QEG5 pro) como se muestra en la (Figura 5), en un rango de mediciones de 200 a 3800 números de onda laser de 785 nm de longitud de onda y una potencia de salida de 500 mWatts. Se registraron todas y cada una de los espectros de absorción de las hojas mediante el software QEG5 pro 2013. Los datos se trasladaron a una base de datos en el programa computacional Excel 2015 y posteriormente al programa computacional SAS (SAS Institute, año)

para someter los datos a análisis de varianza y comparaciones de medias mediante la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

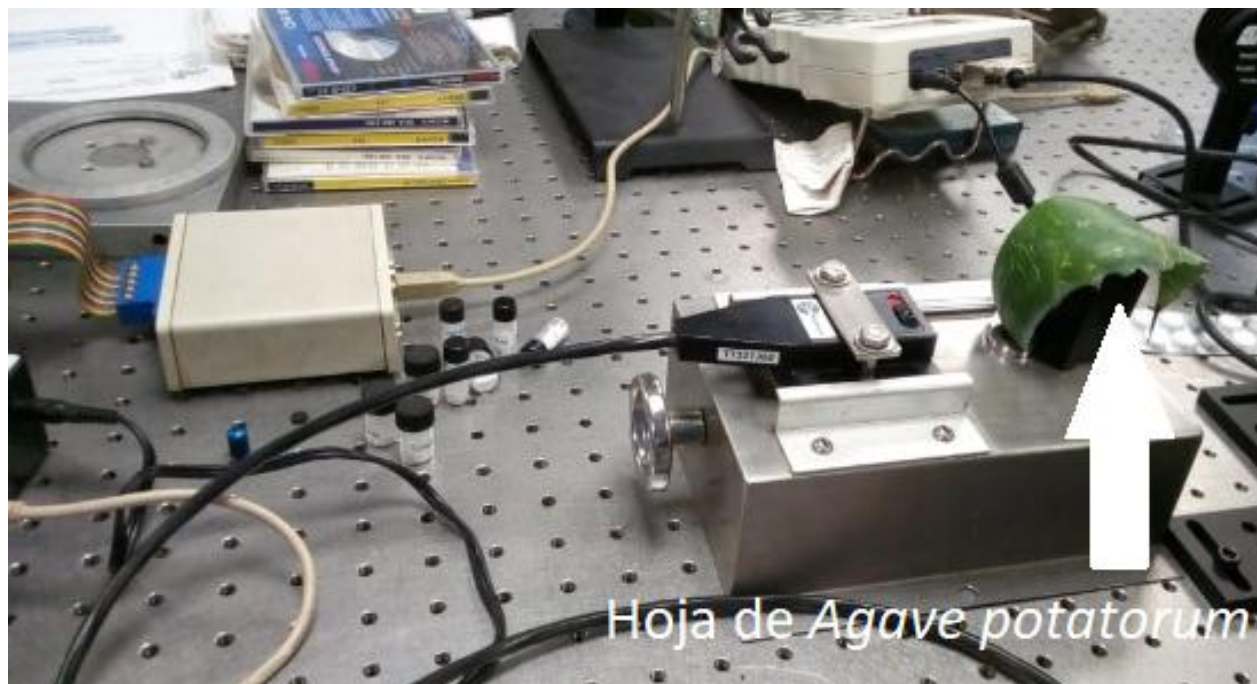


Figura 5. Espectroscopio Raman Ocean Optics QEG5 Pro

5.6 Microscopia Óptica Confocal

La autofluorescencia de los tejidos vivos es un fenómeno natural que se debe a la presencia de metabolitos endógenos y compuestos fluorescentes orgánicos e inorgánicos. En las células vegetales, la autofluorescencia se deriva principalmente de la presencia de clorofila y lignina, es especialmente útil cuando existen longitudes de onda de excitación en el rango del azul y el ultravioleta. La clorofila presenta un pico de absorción en 488 nm (Lewis *et al.*, 2013). Este estudio se realizó en CIATEJ (Centro de Investigación Aplicada y Tecnología del Estado de Jalisco), siguiendo la metodología de Achet (2010), con una modificación al método.

Mediante bisturí se realizó un corte transversal de (aprox. 0.1 mm) en el centro del haz de cada una de las 12 hojas representativas de *A. potatoorum* de los cuatro tratamientos (T1), (T2), (T3) y (T4). Las secciones se depositaron en un portaobjetos con una gota de agua y selladas con un cubreobjetos encima.

Este estudio histológico se realizó en un microscopio óptico confocal (Leica, TCS SPE) utilizando un láser de argón de 488 nm, objetivo de ACS APO 10X/0.30 CS, con el software LAS X, con pinhole a 600 micras. Los archivos fueron almacenados en formato TIF. Se tomó un área de 400µm x 400µm y se contó el número de células completas. Se agruparon por calidades de iluminación y los datos se sometieron a análisis de varianza y la comparación de medias mediante la prueba de Tukey (0.05). Para las rutinas de análisis estadístico se usó el programa computacional SAS (SAS Institute, 2010).

5.7 Cuantificación de fructanos mediante cromatografía de gases acoplada con la columna de exclusión (HPLC-SEC)

Se siguió la metodología de Moreno (2017), para conocer en muestras de tallo, la cantidad de fructanos presentes, azúcares, peso molecular promedio, grado de polimerización promedio, la cual consiste en triturar ¿qué cantidad? de tallo con 100 mL de agua destilada, hasta que se obtuvo 100 g de esa mezcla, calentar a 80° C, en un rotavapor marca Buchi durante 20 minutos, como se muestra en la (Figura 6). Posteriormente la mezcla se filtró en una malla mesh #100 y se dejó enfriar por 30 minutos en agua con hielo, con la finalidad de provocar un choque térmico, después se centrifugó en una centrifuga marca Shidoku durante 25 minutos a 4000 rpm, y se depositó 1 mL en el refractómetro digital marca Heliox 2345x para conocer los grados Brix. Una vez que se registró en bitácora la lectura del equipo, se refrigeraron a 10°C. Después, se extrajo 1

mL de cada muestra y se vació a viales y se etiquetaron para su análisis en HPLC-SEC. Al obtenerse los cromatogramas se elaboraron los cuadros de porcentaje de fructanos, sacarosa, glucosa mas fructosa, peso molecular promedio y la gráfica de la evolución del grado de polimerización promedio a 3,6 y 9 meses.

VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Variables respuesta

Los análisis de medias de los parámetros biométricos de las plantas que se expusieron a las 4 condiciones de iluminación, tras 9 meses de medición, mostraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$), en la variable altura de cogollo. Las plantas con el valor menor, fueron las que se expusieron a la condición de T4 (radiación solar) con 9.6646 cm. Mientras que el mayor valor con 11.6155 cm se presentó en la condición T2 (luz azul), un incremento de 16.70%, este comportamiento es similar al registrado en fresa (*Fragaria.spp*) por Hyo (2015), esto se debe a que la luz azul posee energía en la longitud de onda de 428 a 380 nm, lo que promueve el desarrollo en la fase vegetativa.

Las plantas que tuvieron su roseta con diámetro menor fueron las que estuvieron expuestas a la condición de iluminación T4 (testigo de radiación solar) con 26.16 cm, y las plantas con valor mayor con 34.0482 cm, fueron las que se expusieron a la condición T2 (luz azul) con un incremento de 23.24%, respecto al testigo. Jishi (2015) reportó una situación similar en hojas de lechuga cos (*Lactuca sativa . L*) bajo luz azul.

En el caso de la variable hoja más larga, los valores menores se presentaron en las condiciones T1 (luz roja+azul), y 4 (testigo), prácticamente sin variación significativa con 15.17 cm y 15.54 cm, respectivamente. Las hojas de mayor longitud correspondieron a las plantas que se expusieron a la condición T2 (luz azul) con 18.56 cm, un incremento de 18.25%. Como se muestra en el (Cuadro 2). Un comportamiento similar fue observado en lechuga (*Lactuca sativa* . *L*) sometida a la condición de luz azul (Li *et al.*, 2016).

Cuadro 2. Parámetros biométricos de *A. potatorum* durante ¿Cuántos meses a? a diferentes calidades de iluminación.

Calidades de luz	Altura de cogollo	Diámetro de Roseta	Hoja más larga	Número de Hojas
Roja + Azul (T1)	11.61±.91 ^c	26.57±.63 ^c	15.17±.79 ^c	10.90±.32 ^a
Azul (T2)	14.37±.34 ^a	34.04±.34 ^b	18.56±.21 ^a	11.28±.44 ^a
Rojo (T3)	12.54±.55 ^b	29.79±.67 ^b	17.16±.35 ^b	10.71±.49 ^b
Testigo (T4)	9.66 ±.11 ^d	26.15±.75 ^d	15.54±.65 ^c	9.01±.89 ^c

6.2 Determinación de clorofila y carotenoides

Se sabe que el contenido de pigmentos antena (clorofilas y carotenoides) y tejidos fotosintéticos es variable según la especie, y en un estudio de hojas de lechuga (Green Oak Leaf) la cantidad fue variable de acuerdo a la edad de la hoja, nutrición, al fotoperiodo, y la calidad de la luz que recibe (Xiao-Li *et al.*,2016). En el presente trabajo se evaluó el contenido de clorofila,

carotenoides y el tamaño celular, para conocer el efecto que la calidad de iluminación tiene sobre las hojas jóvenes de *A. potatozum*.

6.3 Determinación de clorofila

Los análisis de varianza mostraron que las diversas calidades de iluminación tuvieron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) de efecto en la cantidad de clorofilas en las hojas. Las muestras foliares de plantas que estuvieron expuestas a (T1) tuvieron 0.8030 mg de *Cl_a* por g^{-1} PF foliar, cantidad que fue desde 2.57 hasta 3.27 veces la cantidad de *Cl_a* que tuvieron las plantas en las condiciones de iluminación T2, T3 y T4 (Cuadro 2).

En el caso de la clorofila *b* (*Cl_b*) las muestras foliares de plantas que fueron expuestas a la consición T1, presentaron 0.3247 mg de *Cl_b* g^{-1} PF, cantidad significativamente mayor ($P \leq 0.05$) que los 0.1338, 0.1328 y 0.0851 mg de *Cl_b* g^{-1} PF en las hojas de plantas expuestas a iluminación T2, T3 y radiación solar T4. Las hojas de plantas expuestas a luz roja+azul , T1 tuvieron desde 2.42 hasta 3.81 veces la cantidad de *Cl_b* que tuvieron las muestras foliares de las plantas en las condiciones de iluminación T2, T3 y T4 (Cuadro 3). Esto se debe probablemente a que estuvo sometida a luz azul en el rango de 450 nm y 650 nm donde la clorofila presenta sus dos picos de absorción (Baranski *et al.*, 2005).

Un experimento con plantas de lechuga (*Lactuca sativa* var. Crispa hoja de roble verde) que se expusieron a $135 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de intensidad reportó un comportamiento similar con 49% más de clorofila *a* y *b*, expuestas a una condición de luz blanca y azul, con un fotoperiodo de 16 h (Lichen *et al.*, 2016). También es similar a lo obtenido en plantas de ¿especie? por Johkan (2010) y Mizuno (2011) cuyos resultados mostraron que desarrollaron mayor cantidad de clorofila cuando fueron expuestas durante ----días a la luz azul. En el presente trabajo, las plantas que estuvieron

expuestas a iluminación azul (T2) sus hojas tuvieron -----mg de clorofilas totales g^{-1} de peso fresco, las que presentaron la relación más alta de *Cl*_a/*Cl*_b con valor de 2.60, sobre 2.57, 2.49 y 2.23 correspondiente a las condiciones de iluminación T3, T4 y T1. (Cuadro 2). Según Lauzán (1991) cuando la relación *Cl*_a/*Cl*_b es mayor a 1 en pasto (*Pennisetum purpureum*) el funcionamiento de las clorofilas a y b promueven la eficiencia fotosintéticamente más eficiente. Por lo que se deduce que en las hojas de *A. potatorum* expuestas a la condición (T2) lo que probablemente genera un mayor transporte de electrones, y promovería mayor actividad fotosintética.

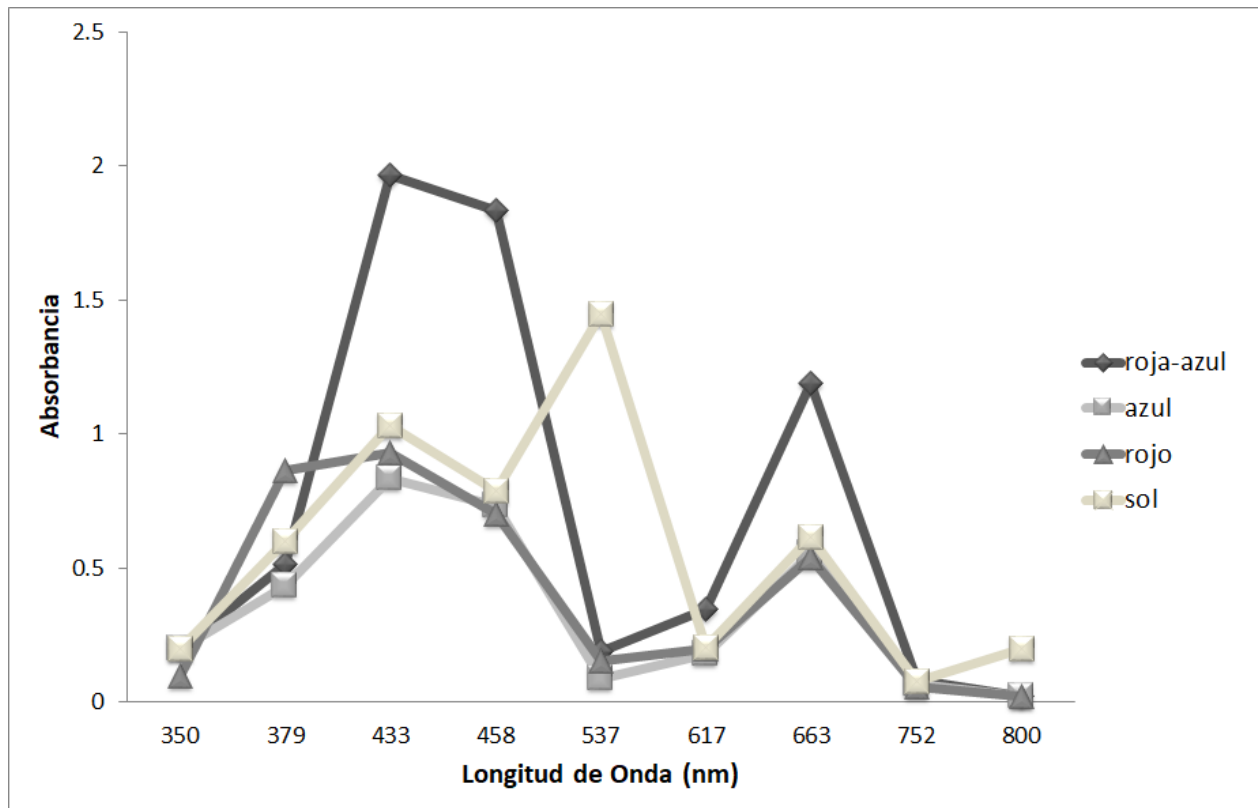
La suma de las clorofilas *Cl*_a y *Cl*_b de las hojas sometidas a luz roja+azul (T1) presentaron un valor de 0.9345 mg *Cl*_a + *b* g^{-1} PF, cantidad significativamente mayor (Tukey $\alpha= 0.05$) que los 0.4146, 0.4410 y 0.3794 mg de *Cl*_a+*b* g^{-1} PF, en las muestras de plantas sometidas a T2, T3 y T4. Las hojas de plantas bajo luz roja+azul (T1) mostraron 2.25 hasta 2.46 veces el valor de *Cl*_a + *b* que las muestras expuestas bajo iluminación T2, T3 y T4 (Cuadro 3).

Cuadro 3. Contenidos de clorofilas *a*, *b* y totales en el haz de plantas de *A. potatorum* que durante 270 días se expusieron a diferentes calidades de iluminación.

Calidad de Luz	<i>Cl</i> _a (mg/PF)	<i>Cl</i> _b (mg/PF)	<i>Cl</i> _a / <i>Cl</i> _b	<i>Cl</i> _a + <i>b</i> (mg/PF)
Roja+Azul (T1)	0.80 ± .14 a	0.32 ± .44 a	2.23	0.93 ± .12a
Azul (T2)	0.31 ± .22 b	0.13 ± .05 b	2.6	0.41 ± 0.14 b
Rojo (T3)	0.25 ± 0.06 b	0.13 ± 0.02 b	2.57	0.44 ± .29b
Testigo (T4)	0.24 ± 0.01 b	0.08 ± 0.04 b	2.49	0.35 ± .56 b

a,b En cada columna, valores con letras comunes no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05).

Para corroborar esta información se construyó la Gráfica 1, en que se muestra ¿qué?-----



Gráfica 1 Respuesta a la absorbancia de las hojas de *A. potatozum* Zucc, expuestas a los diferentes colores de luz, respecto a las longitudes de onda de 350 nm a 800 nm.

6.5 Cuantificación ¿de carotenoides? por espectroscopia Raman

Los análisis de varianza (Cuadro 4) mostraron que las diversas calidades de iluminación presentaron diferencias significativas ($P < 0.005$) de efecto en las muestras foliares que variaron en la intensidad de los picos de carotenoides. Las muestras foliares de plantas que se expusieron a luz Roja+Azul (T1) y las muestras foliares de las plantas del grupo testigo de radiación solar (T4) presentaron 1375.7 au y 438.7 au de α caroteno, cantidades significativamente diferentes (Duncan, 0.001). Las muestras foliares de las plantas expuestas a la condición (T1) mostraron una

razón 3.13 mayor que las muestras foliares de las plantas testigo, que estuvieron expuestas a radiación solar (T4). Las intensidades de las muestras foliares de las condiciones de iluminación de luz azul (T2) y luz roja (T3) para α caroteno fueron 963.07 au y 687 au, que no fueron significativamente mayores (Tukey, 0.05) a los ----- y ----- au con la condición (T1) y (T4) (Cuadro 3). Estos resultados coinciden con la descripción de Frede (2019) que sometió plantas de pak choi *Brassica rapa* ssp. *Chinensis* a luz azul y roja por separado, encontrando que las hojas de las plantas expuestas a luz azul acumularon mayor cantidad de α caroteno que las hojas de plantas expuestas a luz roja.

Para el β caroteno la mayor intensidad, 2161 au, se registró en las muestras foliares de plantas que se expusieron a iluminación roja-azul (T1) cantidad 3.23 veces y significativamente mayor (Tukey, 0.05) que los 669 au intensidad registrada en las muestras foliares de las plantas testigo que estuvieron expuestas a radiación solar (T4). Las intensidades de las muestras foliares de las condiciones de iluminación luz azul (T2) y luz roja (T3) fueron 1309.0 au y 1096 au, respectivamente, no son significativamente diferentes (Duncan, 0.001), con los valores obtenidos en las muestras foliares de las condiciones T1 y T4 (Cuadro 4). Estos resultados se asemejan a lo reportado en estudios en los efectos de la calidad de la luz que mostraron que la generación de xantofilas y β carotenos incrementaron, mientras que la luz en el rojo lejano inhibió la síntesis de licopeno y β caroteno (Lester, 2006; Li & Kubota, 2009). Respecto a lo anterior, se tienen reportes experimentales de que la generación de carotenoides con luz azul y roja, depende de la especie de la planta y el fotoperiodo, así como su incremento (Johan *et al.*,2010; Lefsrud *et al.*, 2008; Li & Kubota, 2009) o su decremento (Heo *et al.*,2012, Lin *et al.*, 2013., Ohashi-Kaneko *et al.*,2007).

Cuadro 4. Valores de la determinación Raman que expresan el contenido de carotenoides en unidades arbitrarias (a.u) en hojas de *A. potatoorum* que se expusieron durante 270 días a diferentes calidades de iluminación.

Calidad de Luz	α caroteno intensidad a.u	β caroteno intensidad a.u
Roja+ azul (T1)	1375.7 \pm 859.64 a	2161.0 \pm 1365.07a
Azul (T2)	963.0 \pm 196.44 ab	1309.0 \pm 367.0817ab
Roja (T3)	687 \pm 38.15 ab	1096 \pm 131.55 ab
Testigo (T4)	438.7 \pm 90.97 b	669 \pm 149.40 b

En cada columna, valores con la misma letra no son diferentes significativamente (Tukey, 0.05)

Los pigmentos accesorios absorben la luz en diferente longitud de onda que las clorofilas *Cl_a* y *Cl_b*, con la capacidad de transferir la luz acumulada hacia la *Cl_a*, así como protegen el aparato fotosintético contra la fotooxidación (Silva *et al* 2001; Taiz y Zeiger, 2006).

6.6 Microscopia Óptica Confocal

El presente trabajo es el primer estudio con microscopia óptica confocal que describe el aparato fotosintético de hojas de *A. potatoorum*. En donde se observó el tejido del parénquima clorofílico

en el centro del haz. Estas representaciones microelectrónicas se asemejan con las imágenes de la planta CAM *Sedum semiforme* (Alché et al., 2010). Los análisis de varianza de los datos a los primeros tres meses del experimento, mostraron que las diversas calidades de iluminación tuvieron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) de efecto en la morfología de las células de las muestras foliares de plantas que estuvieron expuestas a radiación solar. Las células ¿de la epidermis? de las plantas que estuvieron expuestas a T4 tuvieron un área de $1444.5 \mu\text{m}^2$, magnitud significativamente mayor (Tukey, 0.05) que $1403.4 \mu\text{m}^2$, $1253.0 \mu\text{m}^2$ y $852.9 \mu\text{m}^2$ que tuvieron las células de muestras foliares expuestas a las condiciones de iluminación (T3), (T1) y (T2). Las células de tejido foliar de plantas expuestas a la condición de iluminación (T1) fue 1.69 veces mayor que las muestras foliares de la condición de iluminación (T2) (Cuadro 5).

La calidad de iluminación a la que se expusieron las plantas, mostraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) de efecto en la morfología y la cantidad de células en tejidos foliares. Las hojas en la condición de iluminación (T2) tuvieron 107 células en $1600 \mu\text{m}^2$, cantidad 1.75 mayor y significativamente mayor (Tukey, 0.05) que las 61 células en $1600 \mu\text{m}^2$ de los tejidos foliares de las plantas que se expusieron a radiación solar (T4). Las plantas en las condiciones de iluminación (T1) y (T3), desarrollaron hojas con 95 y 85 células en $1600 \mu\text{m}^2$ que son cantidades intermedias no son significativamente diferentes a las obtenidas en plantas expuestas a (T2) y (T4).

Cuadro 5. Tamaño de células y cantidad de células, en tejidos foliares de plantas que se sometieron durante 9 meses a diferente calidad de iluminación.

Colores de luz	área μm^2	Número de células en $1600 \mu\text{m}^2$
Roja+Azul (T1)	1253 ± 700.39^{ab}	95 ± 5.56^{ab}
Azul (T2)	852.9 ± 565.35^b	107 ± 8.71^a
Rojo (T3)	1403.4 ± 827.22^a	85 ± 13.07^b
Sol (T4)	1444.5 ± 776.71^a	61 ± 2.0^c

Los valores a, b y c son diferentes significativamente con ($P \leq 0.005$)

La cantidad de células de las muestras foliares y la regularidad de sus áreas hexagonales (figura 6) presentan la siguiente relación en orden descendente (T2)>(T1)>(T3)>(T4). Esto puede estar relacionado con el fototropismo que se produce con la luz azul, como los resultados reportados por Cosgrove (1981) en pepino (*Cucumis sativus L.*) que experimentó un rápido crecimiento con luz azul al 50%, lo cual según Serger *et al* (1982) la luz azul estimula la apertura estomática y esto ayuda a que ingrese mas CO_2 , como substrato de fotosíntesis, inhibiendo la fotorespiración y promoviendo la eficiencia fotosintética.

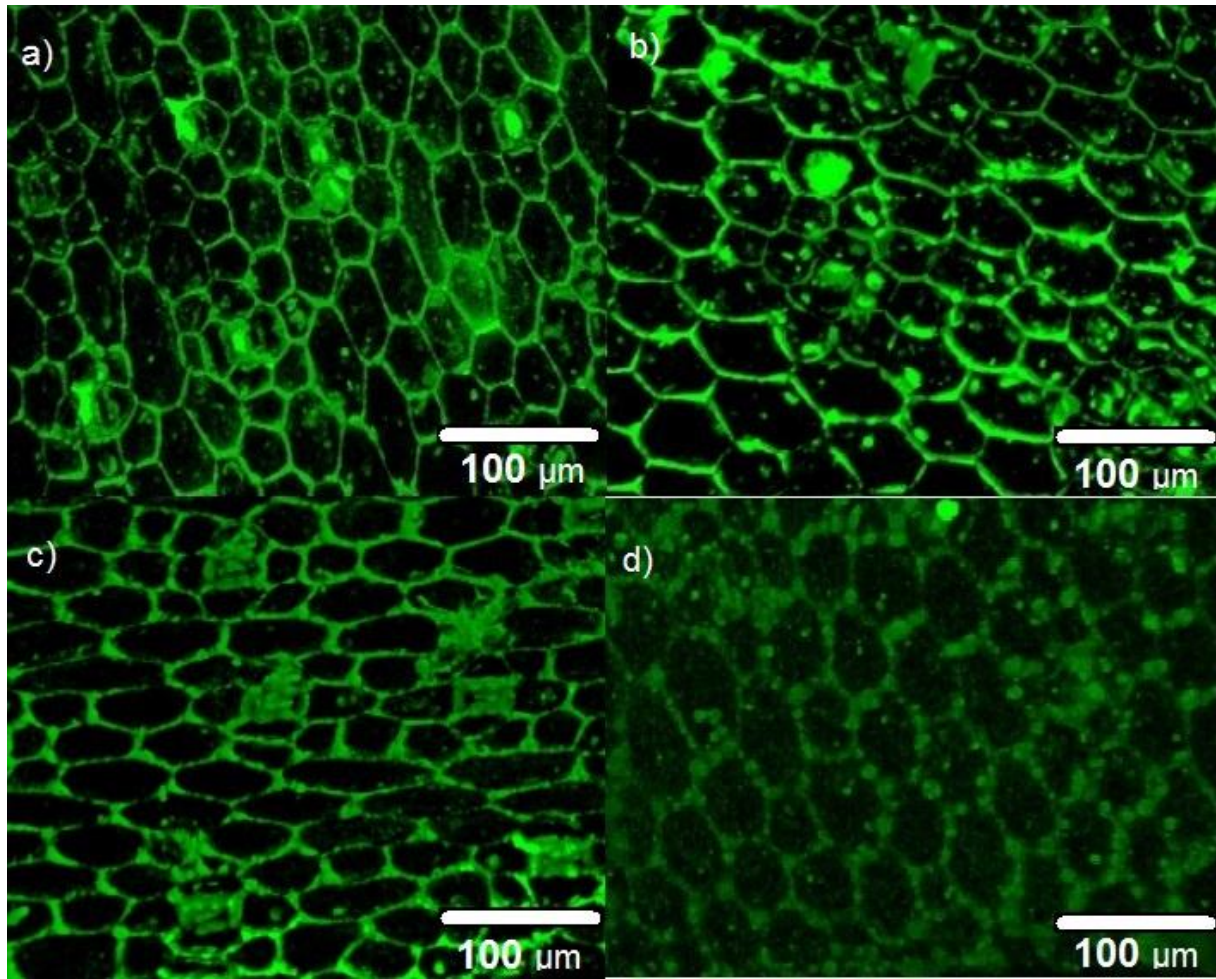


Figura 6. Imágenes microelectrónicas de Forma y tamaño de células del haz de hojas de plantas que durante -----días se espusieron a diferente calidad de iluminación: a) (T1), b) (T2), c) (T3) y d) (T4).

6.7 Cuantificación de fructanos

Porcentaje de fructanos

Los análisis de varianza mostraron que las diversas calidades de iluminación tuvieron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) de efecto en el porcentaje de fructanos mayores a 10 ($DP > 10$). Al tercer mes del experimento, las muestras de tallo de plantas de *A. potatorum* que mostraron el mayor porcentaje de polimerización, fue en (T2) con 73.87% A, cantidad significativamente mayor (Tukey, 0.05) que 73.87% \pm 7.27 A en (T1), 50 \pm 2 B en (T3) y el menor porcentaje fue en (T4) con 43% \pm 14.10 B.

Para el caso de cadenas poliméricas de cadena corta ($DP < 10$), el valor más alto fue de 38.33% \pm 4.61 A en el (T3), diversos estudios demuestran que son los fructanos de cadena corta los promotores de la absorción mineral y la reducción del Ph del colón (López *et al.*, 2008). Así mismo esta cantidad es significativamente mayor (Tukey, 0.05) que 34.1% \pm 9.84 A en (T4), 20.64% \pm 9.73 B en (T1) y el valor menor 16.66% \pm 6.05 B en (T2).

En el peso molecular promedio (Mw) el valor más alto fue 3917.95 \pm 450.69 A en (T2), los valores intermedios fueron 3810 \pm 245.56 A (T3), 3577.42 \pm 518.01 B (T4) y el más bajo fue 3344.03 \pm 1895.61 B (T1). El valor más alto en (Mn) fue de 3086.21 \pm 794.60 A (T1), los valores intermedios fueron 2935.76 \pm 478.30 A (T2), 1946.67 \pm 68.06 B (T3) y el valor menor fue 1904.06 \pm 111.13 B (T4).

El porcentaje más alto de sacarosa se presentó en (T4) con 13% \pm 8.71 A, los valores intermedios fueron 3.44% \pm 4.25 B (T1), 2.51 \pm 0.89 B (T3) y el valor más bajo fue 2.13 \pm 0.67 B (T2).

El porcentaje más alto de glucosa más fructosa fue 8.18 \pm 1.41 A en (T3), cantidad significativamente mayor (Turkey, 0.05) que 6.56 \pm 4.67 A (T4), 6.48 \pm 5.31 A (T2) y el menor en 2.29 \pm 0.69 B (T1). Como se muestra en el cuadro 6.

Cuadro 6. Primera cuantificación de fructanos.

Color de Luz	DP > 10	DP <10	Mw	Mn	SAC	GF
Azul-Roja(T1)	73.87 ± 7.27 a	20.64 ± 9.73b	3344.83 ± 1895.61 b	3086.21 ± 794.60 a	3.44 ± 4.25 b	2.29 ± 0.69 c
Azul (T2)	74.72 ± 1.31 a	16.66 ± 6.05 b	3917.95 ± 480.69 a	2935.76 ± 478.30 a	2.13 ± 6.67 b	6.48 ± 5.31 b
Rojo (T3)	50 ± 2 b	38.33 ± 4.61 a	3810 ± 245.56 ab	1946.67 ± 68.06 b	2.51 ± 0.89 b	8.18 ± 1.41 a
Testigo (T4)	43 ± 14.10 b	34.1 ± 9.84 a	3577.25 ± 56.15 b	1904.06 ± 111.13 b	13 ± 8.71 a	6.56 ± 4.67 b

DP= grado de polimerización; Mw= peso molecular; MN= -----; SAC= ¿sacarosa?; GF= -----
a,b y c en cada columna valores con letras comunes no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05).

A los 6 meses después del inicio del experimento, se realizó la segunda extracción de fructanos. Los análisis de varianza mostraron que las diversas calidades de iluminación mostraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) de efecto en el porcentaje de polímeros mayores a 10 (DP > 10) el valor más alto se presentó en (T2) con 79.31%, los valores intermedios en (T1) con 65.52% en (T3) con 60.98% y el menor en (T4) con 52.22%, este valor se asemeja mucho al reportado en (2013) por Alvarado, para fructanos comerciales de achicoria. En el caso de los oligofructanos (DP < 10) el valor más alto fue en (T4) con 29.61%, los intermedios en (T1) con 21.67%, 13.61% en (T3) y el menor con 4.83% en (T2).

Para la variable Mw el valor más alto fue en (T2) con 6496.81, los valores intermedios en (T3) con 5026.29, 4012.52 en (T4) y el menor en (T1) con 3869.13.

En el caso de (Mn) el valor más alto fue en (T2) con 4184.4, los valores intermedios en (T1) con 3209.3, 3141.48 en (T3) y el menor valor fue en (T4) con 2235.26.

El porcentaje de sacarosa más alto fue de 9.95% en (T3) los valores intermedios 5.95% en (T1), 5.35% en (T4) y el valor menor fue en (T2) con 4.47%.

El valor más alto de GF fue de 24.12% en (T1), los valores intermedios 11.98% en (T2), 15.12% en (T3) y el valor más bajo fue en (T4) con 2.79%. Como se muestra en el cuadro 7.

Cuadro.7 Segunda cuantificación de ¿sacarosa, glucosa, fructosa y? fructanos

Colores de Luz	DP > 10	DP < 10	Mw	Mn	SAC	GF
Azul-Roja(T1)	65.52 ± 2.37 a	21.67 ± 0.35 a	3869.13± 25.40 c	3204.3 ± 19.40 b	5.95 ± 3.12 b	24.12 ± 2.46 a
Azul (T2)	79.31 ± 5.79 a	4.83 ± 10.7 a	6496.18 ± 108.18 a	4184.4 ± 283.12 a	4.47 ± 6.89 b	11.98 ± 7.89 b
Roja (T3)	60.98 ± 13.11 b	13.61 ± 2.66 b	5026.29 ± 145.70 b	3141.48 ± 256.70 b	9.95 ± 4.21 a	15.12 ± 6.90 b
Testigo (T4)	52.22 ± 4.16 c	29.61 ± 4.19 a	4012.52 ± 223.16 c	2235.26 ± 190.56 c	5.35 ± 2.89 b	2.79 ± 0.34 c

DP= grado de polimerización; Mw= peso molecular; MN= -----; SAC= ¿sacarosa?; GF= -----
a,b y c en cada columna valores con letras comunes no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05).

A los 9 meses se realizó la tercera extracción de fructanos, en los polímeros con cadenas mayores a 10 (DP > 10), el valor más alto fue en (T4) con 75.74%, muy cerca al (T1) con 74.25%, ahora el (T2) que en la primera y segunda extracción mostró los porcentajes más altos, es el valor intermedio y el valor más pequeño en (T3) con 37.51%.

El valor más alto en porcentaje de oligofructanos fue el (T3) con 43.37%, (T4) mostró un valor de 15.70% muy de cerca del (T1) con 14.17% y el menor valor en (T2) con 11.5%.

El (Mw) más alto fue de 3633.04 en (T2), los valores intermedios en 3335.26 en (T4), 3308.80 en (T1) y el valor menor 2902.18 en (T3).

El valor más alto de (Mn) es 2804.36 en (T1), los valores intermedios en (T4) con 2708.54, 2703.49 en (T2) y el menor valor fue 1454.41 en (T3).

El porcentaje de SAC más alto fue 9.43% en (T2), los valores intermedios son 6.76% en (T3), 4.89% en (T1) y el valor más bajo es 3.10% en (T4).

El porcentaje de GF más alto fue en (T3), los valores intermedios fueron 11.14% en (T2), 6.67% en (T1) y el valor más bajo fue en (T4) con 5.32%. Como se muestra en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Tercera cuantificación de ¿sacarosa, glucosa, fructosa y? fructanos.

Colores de luz	DP > 10	DP < 10	Mw	Mn	SAC	GF
Roja+Azul (T1)	74.25 ± 3.37 a	14.17 ± 4.95 b	3308 ± 735.87 b	2804.36 ± 217.62 a	4.89 ± 4.74 b	6.67 ± 4.93 b
Azul (T2)	68.17 ± 7.79 b	11.5 ± 1.57 b	3633.04 ± 238.98 a	2703.49 ± 213.68 b	9.43 ± 7.35 a	11.14 ± 1.22 b
Roja (T3)	37.54 ± 23.11 c	43.37 ± 22.1 a	2902.18 ± 1345.10 b	1454.41 ± 317.90 a	6.76 ± 3.05 b	12.34 ± 2.10 a
Sol (T4)	75.74 ± 14.06 a	15.07 ± 14.12 b	3335.26 ± 644.04 b	2708.54 ± 571.6 b	3.10 ± 0.69 b	5.32 ± 0.53 c

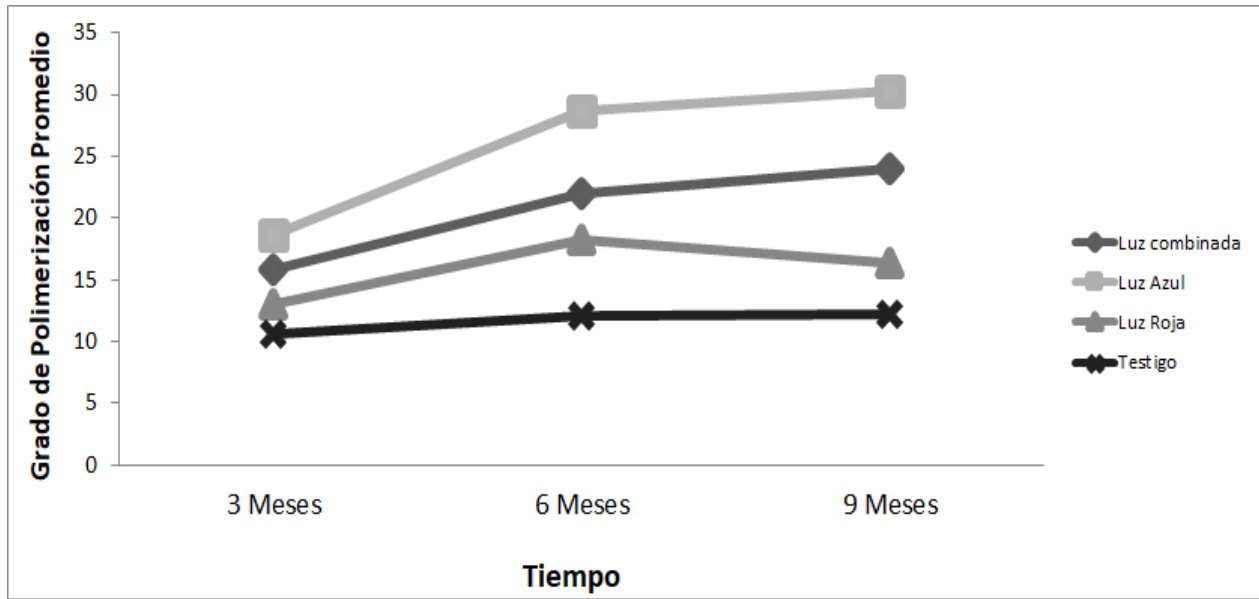
DP= grado de polimerización; Mw= peso molecular; MN= -----; SAC= ¿sacarosa?; GF= -----
a, b y c en cada columna valores con letras comunes no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05).

En la variable respuesta grado de polimerización promedio (GPP), la gráfica muestra la tendencia ascendente del (T2), partiendo de 18.98 a los 3 meses, 25.56 a los 6 meses y 26.22 a los 9 meses, este resultado se asemeja con un descubrimiento en el año (2003) por la Dra. Mercedes López en el *Agave tequilana* de 8 años, el rango de polimerización va de 3 a 29 con la espectroscopia MALDI-TOF. Lo más relevante es que los Agaves del presente trabajo de tesis, tenían 2.3 años cuando se hizo la cuantificación. Este estudio abre la posibilidad en un futuro de generar fructanos de alto GPP en Agaves jóvenes, con luces LED color azul, ya que un estudio propone a los fructanos de alto grado de polimerización como material nanoencapsulante para compuestos bioactivos y demostró alta fotoestabilidad (Ki won et al ., 2019).

El (T1) también presenta un valor alto de GPP a los 3 meses 19.23, 20.23 a los 6 y 20.45 a los 9 meses, lo que pareciera un estancamiento en el GPP.

El (T3) a los 3 meses mostró un GPP de 13, a los 6 meses 13.61, a los 9 meses 9.03, esta es la única condición que presentó un decrecimiento de 30.76%, respecto al inicio del experimento. Este resultado final, se asemeja al grado de polimerización encontrado en (2017) por Apolinario en tallos de *Agave sisalana* de 6 años de edad. Esta luz puede utilizarse en otros estudios para generar principalmente prebióticos en el tallo de *Agaves.spp* jóvenes.

El menor valor se presentó en (T4) a los 3 meses con 10.64% a los 6 meses incrementó a 13.69% y casi coincide con (T3), a los 9 meses 15.23% con una tendencia al alza en GPP. Como se muestra en la gráfica 2.



Gráfica 1. Grado de polimerización promedio.

7. Bibliografía citada

- Briggs Winslow R (2008) In the Light of Day: Plant Photomorphogenesis. *Molecular plant*, 1: 1-2.
- Briggs Winslow R (2008) In the Light of Day: Plant Photomorphogenesis. *Molecular plant*, 1:2, 3.
- Camacho Ruíz Rosa, Hernández-López José de Jesús (2016) Fructanos de Agave desde sus Usos Ancestrales hasta su Industrialización. *Tecnoagave* 43:34-35.
- Castillo M.L.E (2000) Introducción a la Estadística Experimental Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México pp. 236.
- Chazaro-Basañez M, and Vásquez-García A, (2013) *Agave jimenoii* (*Polycephale* group, *Asparagaceae*), a new species from the totonocapan región, Veracruz, México. *Phytotaxa* 134:236.
- Curtis H, Barnes NS, Schmerck A, Adsorini A (2009) *Biología de Curtis*. Ed. Medica Panamericana, México D.F. 2 pp: 906-910.
- Curtis H, Barnes NS, Schmerck A, Adsorini A (2009) *Biología de Curtis*. Ed. Medica Panamericana, México D.F. 2 pp: 911-913.
- Curtis H, Barnes NS, Schmerck A, Adsorini A (2009) *Biología de Curtis*. Ed. Medica Panamericana, México D.F. 2 pp: 914-915.
- Drennan, P.M., Nobel, P.S (2000) Responses of CAM species to increasing atmospheric CO₂ concentration. *Plant and Cell Environ* 23:767-781.
- Franco-Robles Elisa, López Mercedes Gpe. (2015) Implication of fructans in health; immunomodulatory and antioxidant mechanisms. *Scientific World Journal* 28: 3-5.
- García-Mendoza Abisai Josué (2007) Los Agaves de México. *Ciencias* 87:14-23.
- García-Mendoza Abisai Josué (2010) Revisión taxonómica del complejo *Agave Potatorum* Zucc. (*Agavaceae*), Nuevos taxa y neotipificación. *Acta Botánica Mexicana* 8:2-8.
- García-Mendoza A, Chavez-Rendon (2013) *Agave Kavandivi* (*Agavaceae*: grupo *Stratae*) una especie nueva de Oaxaca, México. *Rev.Mex.Biodiv.* 84:2.
- Gentry HS (1982) *Agaves of Continental North America*. University of Arizona Press, Tucson, Arizona, USA 2 pp: 302.

Hopkins WG (1995) Photosynthesis carbon metabolism. Introduction to Plant Physiology. John Wiley & Sons, New York, USA 2 pp:187-190.

Hyo Gil Choia, Byoung Yong Moonb, Nam Jun Kangc (2015) Effects of LED light on the production of strawberry during cultivation in a plastic greenhouse and in a growth chamber. *Scientia Horticulturae*. 189: 22-24.

Illsey GC, Gómez AT, Rivera G, Morales MM del P, García BJ, Ojeda SA, Calzada RM, Mancilla NS (2005) Conservación in situ y manejo campesino de magueyes mezcaleros. Grupo de Estudios Ambientales A. C. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. V028. México D. F. pp: 32.

Lauzan 1991-----citado en pag 32

Lira SRH (2007) Fisiología Vegetal. Ed. Trillas, México pp:237.

López-Munguía A, Cuevas-Juárez E, Avila- Fernandez A (2017) Identification of enzymatic activities involved in agave fructan consumption by *Bifidobacterium longum subsp. Infantis*. *Journal of Functional Foods* 35: 267-268.

Martinez GA (2005) Experimentación Agrícola Métodos Estadísticos, Ed. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Texcoco, Estado de México, México pp:364.

Martinez Gutierrez GA, Iñiguez Covarrubias G, Ortiz-Hernandez YD, López Cruz JY, Bautista Cruz MA (2013) Tiempos de apilado del Bagazo del maguey mezcalero y su efecto en las propiedades del compost para sustrato de tomate. *Rev.Int.Contam* 29:209-211.

Martinez Gutierrez GA, Ortiz-Hernández YD, Aquino-Bolaños T, Bautista Cruz MA, Lopez Cruz JY (2015) Properties of Agave *angustifolia* Haw. Bagasse before and after it's composting. *Comunicata Scientific* 6: 418-421.

Mellado-Mojica Erika, López Mercedes Gpe (2013) Análisis Comparativo entre Jarabes de Agave azul (*Agave tequilana webber* var. Azul) y otros jarabes naturales. *Agrociencia* 47:236-237.

Mellado-Mojica Erika, López Mercedes Gpe. (2012) Fructan metabolism in *A. tequilana webber* Blue variety along its developmental cycle in the field. *Journal of Agricultural of Food Chemistry* 67: 11704-11713.

Mellado-Mojica Erika, Gonzalez de la Vara LE, Lopez Mercedes Gpe. (2017) Fructan active enzymes (FAZY) activities and biosynthesis of fructooligosaccharides in the vacuoles of *Agave tequilana* Weber Blue variety plants of different age. *Planta* 245: 265-270.

Meng-YuanHuanga, Kuan-Hung Lina, Chien-Chun Luc, Li-Ru Chena, Tung-Chuan Hsiunga, Wen-ting Chang (2017) The intensity of blue light emitting diodes influences the antioxidant properties and sugar content of oyster mushrooms (*Lentinussajor-caju*). *Scientia Horticulturae* 23: 3-5.

Nobel PS (2008) Sabiduría del desierto agaves y cactus: CO₂ ,agua, cambio climático Ed. Biblioteca Básica de Agricultura, Texcoco, México 2:30-42.

Nobel PS (2008) Sabiduría del desierto agaves y cactus: CO₂, agua, cambio climático Ed. Biblioteca Básica de Agricultura, Texcoco, México 2: 50-56.

Olle M, Virsile A (2013) The effects of light-emitting diode lighting on greenhouse plant growth and quality in leafy lettuce, spinach and komatsuna. *Environ. Control Biol* 45: 189-198.

Xiao-li Chen, Qi-chang Yangb, Wen-pin Songa, Li-chun Wanga, Wen-zhong Guoa, Xu-zhang Xuea, 2017, Growth and nutritional properties of lettuce affected by different alternating intervals of red and blue LED irradiation, *Scientia Horticulturae*, pp: 5-8.

Pedroza SL, Gomez F (2006) La Sábila. Ed. Universidad Autónoma Sábila. Ed. Universidad Autonoma Chapingo. Texcoco, México 2 pp:62-63.

Posada Casierra F, Peña Olmo J, Ulrichs C (2011) Crecimiento y Eficiencia Fotoquímica del Fotosistema II en plantas de fresa afectadas por la calidad de luz. Ed. Academic Press. New York, USA 1pp:2.

Santiago Garcia PA, Mellado-Mojica Erika, Leon-Martínez Frank M, Lopez Mercedes Gpe. (2017) Evaluation of *Agave angustifolia* fructans as fat mimetic in the cookies manufacture. *Food Science and Technology* 77: 100-107.

Sharry Sandra, Adema Marina, Abedini Walter (2010) Plantas de Probeta, Cultivos de Tejido in vitro. Ed. Universidad de la Plata, Buenos Aires, Argentina 3 pp: 208.

Shimizo Rie, Yudai Dampo, Yasumune Nakayama, Satoshi Nakamura, Takeshi Bamba, Eiichiro Fukusaki, Toshiaki Fukui (2015) New Insight into the Role of the Calvin Cycle: Reutilization of CO₂ Emitted through Sugar Degradation. *Scientific Reports* 3 : 2-3.

Wojciechowska Renata, Dlugasz-Granowska Olga, Kolton Arna, Zuprink Marck (2015) Effects of LED supplemental lighting on yield and some quality parameters of lamb's lettuce grown in two winter cycles. *Scientia Horticulturae* 187: 80-84.

Xiao-li Chen, Qi- chang Yangb, Wen-pin Songa, Li-chun Wanga, Wen-zhang Guoa, Xu-Zhang Xuea (2017) Growth and nutritional properties of lettuce affected by different alternating intervals of red and blue LED irradiation. *Scientia Horticulturae* 3: 5-8.

E. Abreu, G. González, R. Ortiz, P. Rodríguez, R. Domech, M. Garriga (2007) Evaluación de Vitroplantas de Henequén (*Agave Fourcroydes Lem*) durante la fase de aclimatización. *Cultivos tropicales* Vol. 28, 1:5-6.