

# EFFECTO DE LA LUZ SOBRE LA SÍNTESIS DE BIOMOLÉCULAS EN MAÍZ *Zea mays L.* 1

Efecto de la longitud de onda sobre la síntesis de pigmentos fotosintéticos, proteínas, carbohidratos y fenoles en hojas de plántulas de maíz, “*Zea mays L.*”

Paula Andrea Borrero Gómez y Silvia Juliana Corrales Murillo

Trabajo de Grado para Optar al Título de Química

Directora

Martha Cecilia Daza Espinosa

Dra. en Ciencias Química

Codirector

William Fernando Hidalgo Bucheli

Dr. en Química Ecológica

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Bucaramanga

2022

**Dedicatoria**

*A Dios.*

*Por nunca dejarme sola, por forjar mi carácter y poner en mi camino personas increíbles.*

*A mis padres.*

*Por su amor, paciencia y apoyo incondicional para lograrlo.*

*A mi compañera.*

*Por confiar en mí, por su apoyo incondicional en momentos difíciles y por gozarse el proceso conmigo.*

*Paula Andrea Borrero Gómez*

*A mi abuelo.*

*Que habita en el cielo y en mi corazón, Por su amor incondicional, por dedicar su tiempo a formar una persona integral y ser mi inspiración para culminar este proceso.*

*Silvia Juliana Corrales Murillo*

### **Agradecimientos**

A la Universidad Industrial de Santander por permitirnos llevar a cabo este proyecto de investigación, por los recursos y herramientas, por ofrecernos educación de calidad y formarnos como profesionales, con un pensamiento autónomo y crítico frente a la vida.

Quisiéramos agradecer a nuestros directores por brindarnos su confianza, a la doctora Martha Cecilia Daza Espinosa por la oportunidad de trabajar en este proyecto juntas, además de su apoyo emocional y económico para desarrollarlo; a el doctor William Fernando Hidalgo Bucheli por su paciencia, apoyo y guía en el proceso.

A los amigos y colegas que nos acompañaron en cada paso, Natalia Rivero, Christian Mier, Sebastián Plata, Sebastián Mora, Astrid Gelves y Camila Díaz por brindarnos su ayuda y palabras de aliento.

Muchas gracias a todos.

**Tabla de Contenido**

	<b>Pág.</b>
Introducción .....	11
1. Objetivos .....	14
1.1. Objetivo General .....	14
1.2. Objetivos Específicos.....	14
2. Marco Teórico.....	15
2.1. Captación de la energía luminosa en plantas .....	15
2.1.1. Fitocromos .....	15
2.1.2. Criptocromos.....	16
2.1.3. Pigmentos fotosintéticos .....	17
2.1.4. Clorofilas.....	18
2.1.4.1. Clasificación de las clorofilas (clorofila <i>a</i> y <i>b</i> ).....	18
2.1.5. Carotenoides .....	19
2.2. Proteínas.....	21
2.2.1. Método de Bradford .....	22
2.3. Carbohidratos.....	23
2.3.1. Método DNS .....	25
2.4. Fenoles .....	25
2.4.1. Método de determinación de fenoles .....	26
2.5. El maíz, <i>Zea mays L.</i> .....	27
3. Metodología .....	28
3.1. Fase 1: Implementación de un protocolo para germinación de plántulas de <i>Zea mays L.</i> .....	28

# EFFECTO DE LA LUZ SOBRE LA SÍNTESIS DE BIOMOLÉCULAS EN MAÍZ *Zea mays* L.5

3.1.1. Germinación y crecimiento de las plántulas de Zea Mays L bajo condiciones de luz visible .....	28
3.1.2. Medición de espectros de emisión y potencia de las lámparas LED .....	30
3.2. Fase 2: Pulverización del tejido vegetal.....	30
3.3. Fase 3: Extracción de los pigmentos fotosintéticos .....	31
3.4. Fase 4: Medición del contenido de pigmentos fotosintéticos .....	32
3.4.1. Cuantificación de pigmentos fotosintéticos .....	32
3.5. Fase 5: Medición del contenido de proteínas mediante el método de Bradford .....	32
3.6. Fase 6: Medición del contenido de carbohidratos mediante el método DNS .....	33
3.7. Fase 7: Medición del contenido de fenoles mediante el método Folin - Ciocalteu .....	34
3.8. Análisis estadístico.....	35
4. Resultados y Discusión .....	36
4.1. Lámparas LED .....	36
4.2. Germinación y características morfológicas .....	37
4.3. Cuantificación de pigmentos fotosintéticos .....	39
4.4. Cuantificación de proteínas.....	45
4.5. Cuantificación de azúcares reductores.....	47
4.5. Cuantificación de fenoles.....	49
5. Conclusiones.....	53
6. Perspectivas futuras .....	54
Referencias bibliográficas.....	55
Apéndices.....	63

**Lista de Figuras**

	<b>Pág.</b>
Figura 1 Recepción de longitudes de onda de la luz según el fotoreceptor implicado. ....	17
Figura 2 Estructura molecular de las clorofilas .....	18
Figura 3 Estructura molecular de los carotenoides .....	20
Figura 4 Estructuras del colorante azul de Coomassie G-250 en su forma azul, aniónica (-1 carga neta).....	23
Figura 5 Espectro de emisión de las lámparas LED utilizadas. ....	36
Figura 6 Efecto de los diferentes tratamientos de iluminación sobre el tamaño promedio de las hojas (cm).....	37
Figura 7 Efecto de los diferentes tratamientos de iluminación sobre el contenido de colorofila a (µg/mg de muestra seca) .....	39
Figura 8 Efecto de los diferentes tratamientos de iluminación sobre el contenido de colorofila b (µg/mg de muestra seca).....	41
Figura 9 Efecto de los diferentes tratamientos de iluminación sobre el contenido de carotenoides (µg/mg de muestra seca) .....	42
Figura 10 Espectros de absorción (nm) de los pigmentos fotosintéticos obtenidos en los diferentes tratamientos de iluminación.....	45
Figura 11 Efecto de los diferentes tratamientos de iluminación sobre el contenido de proteínas (µg/mg de muestra seca) .....	46
Figura 12 Efecto de los diferentes tratamientos de iluminación sobre el contenido de azúcares reductores (µg/mg de muestra seca).....	47

EFFECTO DE LA LUZ SOBRE LA SÍNTESIS DE BIOMOLÉCULAS EN MAÍZ *Zea mays L.* 7

Figura 13 Efecto de los diferentes tratamientos de iluminación sobre el contenido de fenoles  
( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca) ..... 49

**Lista de Apéndices**

	<b>Pág.</b>
Apéndice A Disposición de las semillas en el algodón. ....	63
Apéndice B.....	63
Apéndice C Montajes bajo los diferentes tratamientos de luz blanca, azul y roja, respectivamente. .....	64
Apéndice D Absorbancias de las muestras bajo los diferentes tratamientos de luz. ....	64
Apéndice E Concentraciones finales de los metabolitos estudiados. ....	66
Apéndice F.....	67
Apéndice G Absorbancias de los patrones obtenidas para la curva de calibración de Bradford..	67
Apéndice H Curva de calibración de Bradford.....	68
Apéndice I Patrones para la preparación de la curva de calibración del método DNS para medir el contenido de azúcares reductores.....	68
Apéndice J Absorbancias de los patrones obtenidas para la curva de calibración de DNS.....	69
Apéndice K Curva de calibración de DNS. ....	69
Apéndice L Patrones para la preparación de la curva de calibración del método Folin-Ciocalteu para medir el contenido de fenoles. ....	70
Apéndice M Absorbancias de los patrones obtenidas para la curva de calibración de Folin- Ciocalteu. ....	70
Apéndice N Curva de calibración de Folin-Ciocalteu.....	71
Apéndice O Análisis estadístico. ....	71
Apéndice P Plántulas obtenidas bajo tratamientos de luz blanca (a), azul (b), roja (c) y ausencia (d).....	76

EFECTO DE LA LUZ SOBRE LA SÍNTESIS DE BIOMOLÉCULAS EN MAÍZ *Zea mays* L.9

Apéndice Q Registro de longitud de tallos, hojas y pesos de las hojas analizadas.....	77
Apéndice R Acercamiento de las plántulas obtenidas bajo tratamiento de luz azul (a) y roja (b). .....	78
Apéndice S Proporción de clorofila <i>a</i> respecto a la de clorofila <i>b</i> y carotenoides. ....	79

## Resumen

**Título:** Efecto de la longitud de onda sobre la síntesis de pigmentos fotosintéticos, proteínas, carbohidratos y fenoles en hojas de plántulas de maíz, “*Zea mays L.*”\*

**Autor:** Paula Andrea Borrero Gómez y Silvia Juliana Corrales Murillo\*\*

**Palabras Clave:** Luz, Fotorreceptores, Fitocromos, Criptocromos, Pigmentos, Proteínas, Carbohidratos, Fenoles.

**Descripción:** La luz es un factor ambiental importante en el crecimiento y desarrollo de las plantas, ya que brinda señales para generar diferentes respuestas mediadas por los fotorreceptores, como lo son los fitocromos y criptocromos. En este trabajo de grado se evaluó el efecto de diferentes longitudes de onda sobre las características fenotípicas, síntesis de pigmentos fotosintéticos, proteínas, azúcares reductores y fenoles en las hojas de plántulas de maíz *Zea mays L.* Se germinó cada montaje bajo lámparas LED blanca, azul, roja y ausencia por un fotoperiodo de 12 horas. Se llevó a cabo la extracción de los metabolitos utilizando 10 mg de muestra seca, para posterior cuantificación por métodos espectrofotométricos. Los resultados mostraron que, la exposición a la luz roja, influyó positivamente en la elongación en las hojas ( $8.84 \pm 0.55$  cm) mientras que, una mayor biomasa (931.57 mg muestra) fue encontrado para las plántulas expuestas a luz blanca. La ausencia de luz fue el tratamiento para el cual se evidenció una menor cantidad de hojas, biomasa y ausencia de coloración en tallos y hojas. La concentración de clorofila *a*, *b*, carotenoides y fenoles en las hojas expuestas a luz blanca fueron 6.27, 1.83, 1.02 y 33.92 µg/mg de muestra seca, respectivamente, siendo estos resultados los más significativos entre todos los tratamientos analizados. Por otra parte, la luz roja tuvo un efecto negativo sobre el contenido de proteínas (1.90 µg/mg de muestra seca) mientras que, en ausencia de luz, se encontró el contenido más bajo de carbohidratos reductores (5.23 µg/mg de muestra seca). En resumen, la calidad de luz, expresado en términos de la exposición de las plántulas de *Zea mays L.* a diferentes rangos de radiación electromagnética, tuvo un efecto sobre el crecimiento y desarrollo de la planta e influyó en la concentración de las biomoléculas de interés.

---

\* Trabajo de Grado

\*\* Facultad de Ciencias. Química. Directora: Martha Cecilia Daza Espinosa. Dra. en Ciencias Químicas. Codirector: William Fernando Hidalgo Bucheli. Dr. En Química Ecológica.

**Abstract**

**Title:** Effect of wavelength on the synthesis of photosynthetic pigments, proteins, carbohydrates and phenols in leaves of maize seedlings, "*Zea mays* L."\*

**Author(s):** Paula Andrea Borrero Gómez and Silvia Juliana Corrales Murillo \*\*

**Key Words:** Light, Photoreceptors, Phytochromes, Cryptochromes, Pigments, Proteins, Carbohydrates, Phenols.

**Description:** Light is an important environmental factor in plant growth and development, since it provides signals to generate different responses mediated by photoreceptors, such as phytochromes and cryptochromes. In this degree work, the effect of different wavelengths on phenotypic characteristics, photosynthetic pigment synthesis, proteins, reducing sugars and phenols in the leaves of *Zea mays* L. maize seedlings was evaluated. Each assembly was germinated under white, blue, red and absence LED lamps for a 12-hour photoperiod. Metabolite extraction was carried out using 10 mg of dry sample for subsequent quantification by spectrophotometric methods. The results showed that exposure to red light positively influenced leaf elongation ( $8.84 \pm 0.55$  cm) while a higher biomass (931.57 mg sample) was found for seedlings exposed to white light. The absence of light was the treatment for which a lower quantity of leaves, biomass and absence of coloration in stems and leaves were evidenced. The concentration of chlorophyll a, b, carotenoids and phenols in leaves exposed to white light were 6.27, 1.83, 1.02 and 33.92  $\mu\text{g}/\text{mg}$  of dry sample, respectively, these results being the most significant among all the treatments analyzed. On the other hand, red light had a negative effect on protein content (1.90  $\mu\text{g}/\text{mg}$  dry sample) while, in the absence of light, the lowest content of reducing carbohydrates was found (5.23  $\mu\text{g}/\text{mg}$  dry sample). In summary, light quality, expressed in terms of the exposure of *Zea mays* L seedlings to different ranges of electromagnetic radiation, had an effect on plant growth and development and influenced the concentration of biomolecules of interest.

---

\*\* Faculty of Sciences. Chemistry. Director: Martha Cecilia Daza Espinosa. Ph.D. in Chemical Sciences. Co-director: William Fernando Hidalgo Bucheli. Ph.D. in Ecological Chemistry.

## Introducción

La luz representa un factor ambiental importante en las plantas puesto que afecta de manera directa el crecimiento y desarrollo de estas, siendo indispensable para el proceso fotosintético; además, poseen un conjunto de pigmentos fotosensibles como lo son las clorofilas, carotenoides y xantofilas, así como también un grupo de proteínas que realizan la función de fotorreceptores, que son sensibles a longitudes de onda específicas por lo cual la coloración de las plantas se debe a la absorción de luz y a los colores complementarios que emiten (Azcón-Bieto & Talón, 2008), siendo los de principal interés las clorofilas *a*, *b* y los carotenoides.

Procesos como la fotomorfogénesis, germinación y fotoperiodicidad son regulados por la luz roja, la cual es percibida gracias a fotorreceptores llamados fitocromos, que son proteínas con actividad cinasa que poseen un cromóforo por lo que pueden absorber entre 600 y 800 nm. La reorientación de cloroplastos intracelularmente, el fototropismo, así como la síntesis de clorofila están regulados por la luz azul que es percibida por los criptocromos, estos son flavoproteínas asociadas a dos cromóforos, Flavina Adenina Dinucleótido (FAD) y Metiniltetrahidrofolato (MTHF) y pueden absorber entre 400 y 500 nm (Lin & Todo, 2005). Los fotorreceptores descritos influyen en la síntesis de pigmentos fotosintéticos como lo son las clorofilas, carotenoides y xantofilas.

En este trabajo de grado en modalidad de investigación se estudiará el efecto de la luz blanca, azul, roja y ausencia de luz sobre la síntesis de pigmentos fotosintéticos, carbohidratos, fenoles y proteínas en condiciones de temperatura y humedad controlada con un fotoperiodo de 12 horas, con el propósito de evaluar el efecto de diferentes longitudes de onda sobre la síntesis de pigmentos fotosintéticos, proteínas, carbohidratos y fenoles, en hojas de plántulas de maíz *Zea mays* L; por medio de fases que van desde la germinación de semillas de maíz, maceración y

## EFFECTO DE LA LUZ SOBRE LA SÍNTESIS DE BIOMOLÉCULAS EN MAÍZ *Zea mays* L.13

liofilización, extracción y separación de los diferentes compuestos de interés para su posterior cuantificación y análisis de datos obtenidos.

## **1. Objetivos**

### **1.1. Objetivo General**

Evaluar el efecto de diferentes longitudes de onda sobre la síntesis de lípidos isoprenoides, proteínas, carbohidratos y fenoles en hojas de plántulas de maíz "*Zea mays L.*".

### **1.2. Objetivos Específicos**

Evaluar la germinación y siembra de las semillas de maíz bajo tratamiento con diferentes rangos de luz visible (blanca, azul, roja y ausencia total de iluminación) sobre la síntesis de lípidos isoprenoides, proteínas, carbohidratos y fenoles en hojas de plántulas de maíz.

Extraer y cuantificar clorofilas *a*, *b* y carotenoides de plántulas de maíz germinadas en presencia de diferentes longitudes de onda.

Extraer y cuantificar proteínas, carbohidratos totales y fenoles presentes en las hojas de las plántulas de maíz después del tratamiento a diferentes longitudes de onda.

## 2. Marco Teórico

### 2.1. Captación de la energía luminosa en plantas

La captación de la energía luminosa en las plantas es esencial para su crecimiento y desarrollo (Reed et al., 1993), ya que, éstas tienen proteínas y pigmentos especializados para la percepción selectiva de algunas longitudes de onda del espectro de la luz visible. Estas moléculas fotosensibles son los fitocromos, criptocromos y pigmentos fotosintéticos.

#### 2.1.1. *Fitocromos*

Son cromoproteínas diméricas en las que cada monómero posee un tetrapirrol abierto unido covalentemente a la fitocromobilina como cromóforo. Así mismo, son proteínas solubles y constituidas por dos subunidades idénticas de unos 1200 aminoácidos y 125 kilodalton de masa molecular que funcionan como interruptores moleculares, con una forma activa (Pfr) y absorción en el rojo lejano (700 - 800 nm) y formas inactivas que funcionan en el rojo cercano (600 – 700 nm) (Pr) (Pérez-Urria Carril, 2009).

Al absorber la luz roja cercana (R) o roja lejana (FR), el cromóforo tetrapirrólico unido a la fitocromobilina se fotoisomeriza, induciendo cambios conformacionales reversibles entre las dos formas de fitocromos (Tripathi et al., 2019). Estos fotorreceptores tienen la capacidad de absorber longitudes de onda entre 200 y 800 nm, en donde las plantas superiores se adaptan continuamente a sus entornos lumínicos para optimizar su crecimiento y desarrollo, lo que es controlado por estos fotorreceptores.

Los fitocromos son sensibles a diferentes longitudes de onda, así como a la intensidad y a la duración de la luz y transducen estas señales para regular el ciclo de vida de la planta, desde la germinación, el crecimiento, la floración y la senescencia. Los fitocromos pueden ser de dos tipos: tipo I (phyA) estables a la luz y tipo II (phyB al phyE) inestables a la luz. El fitocromo phyA regula

la señalización de la luz roja lejana (700 – 800 nm), mientras que phyB al phyE regulan la señalización de la luz roja cercana (600 – 700 nm) (Rausenberger et al., 2011).

Los fitocromos se sintetizan en el citosol como la forma inactiva (Pr) y se convierten en la forma activa (Pfr) al absorber luz roja cercana. Esta forma Pfr fotoactivada se traslada del citosol al núcleo, donde regulan la transcripción de los genes que responden a la luz a través de varios factores de transcripción (Leivar & Monte, 2014). El Pfr activo, térmicamente inestable, puede ser convertido a la forma inactiva Pr mediante la absorción de luz del rojo lejano, o mediante un proceso independiente de la luz llamado reversión o reversión térmica.

### ***2.1.2. Criptocromos***

Los criptocromos son flavoproteínas que actúan como fotorreceptores de la luz azul (400 – 500 nm). Estas proteínas poseen dos cromóforos que son el dinucleótido de flavina y adenina (FAD) y el metilniltetrahidrofolato (MTHF) que absorben a una longitud de onda de 380 y 450 nm, respectivamente. Ambos pueden absorber un fotón y dicha energía puede provocar un cambio conformacional que promueve su fosforilación y una cadena de transducción de señales (Lin & Todo, 2005).

Los genes más comunes que codifican los dos tipos criptocromos son CRY1 y CRY2. En el caso de arabisidopsis el nivel celular de la proteína CRY1 no se ve afectado significativamente por la luz, pero el nivel de proteína CRY2 está regulado negativamente por la luz.

El CRY1 es el principal responsable de mediar la inhibición del alargamiento del hipocotilo y la apertura de los cotiledones especialmente en respuesta a altas intensidades de luz azul (Ahmad & Cashmore, 1993; Koornneef et al., 1991). Además, participa en la inducción de las antocianinas mediadas por luz azul (Batschauer, 1998). Mientras que CRY2 desempeña un rol importante en la

promoción de la transición del estado vegetativo al reproductivo (Lin et al., 1998), también esta se encarga de la desetiología como consecuencia a muy bajos flujos de luz azul (Lin et al., 1998).

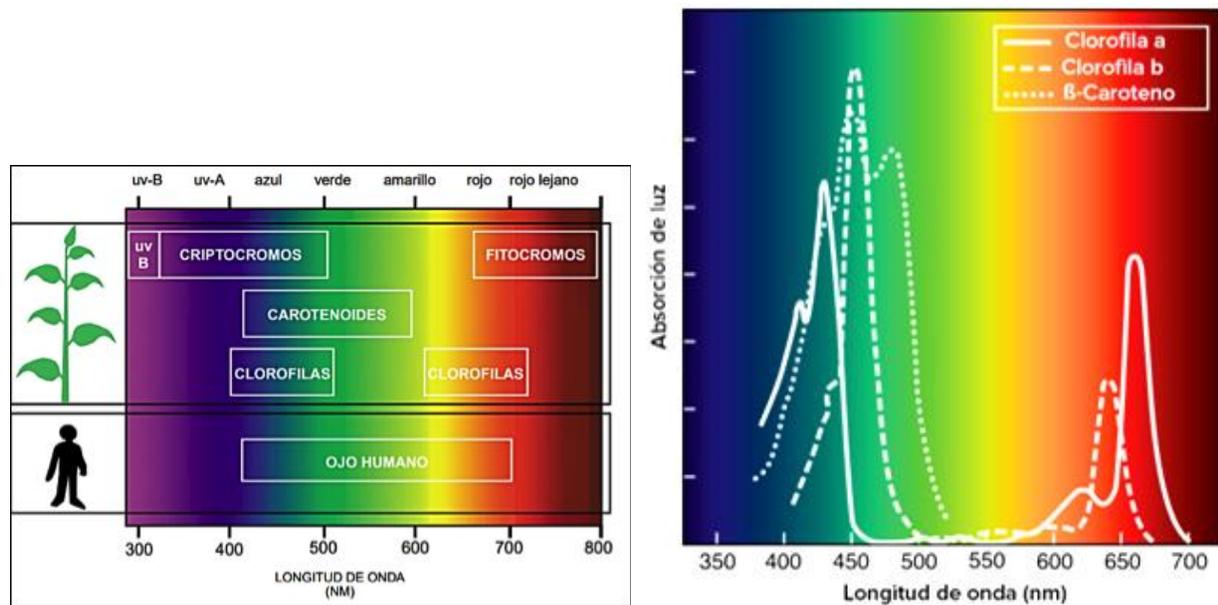
En conclusión, estos fotorreceptores regulan la germinación, crecimiento, elongación, la expansión del cotiledón, y el desarrollo de los cloroplastos, la apertura de las estomas y la mediación del fototropismo, controlando la fotomorfogénesis en respuesta a la luz azul o ultravioleta (UV-A) en las plantas (Koornneef et al., 1991).

### 2.1.3. Pigmentos fotosintéticos

Los pigmentos fotosintéticos son moléculas capaces de captar energía lumínica y transformarla en energía química. Estos se pueden diferenciar por su composición y estructura molecular, entre los principales se encuentran las clorofilas y carotenoides.

#### Figura 1

*Recepción de longitudes de onda de la luz según el fotorreceptor implicado.*



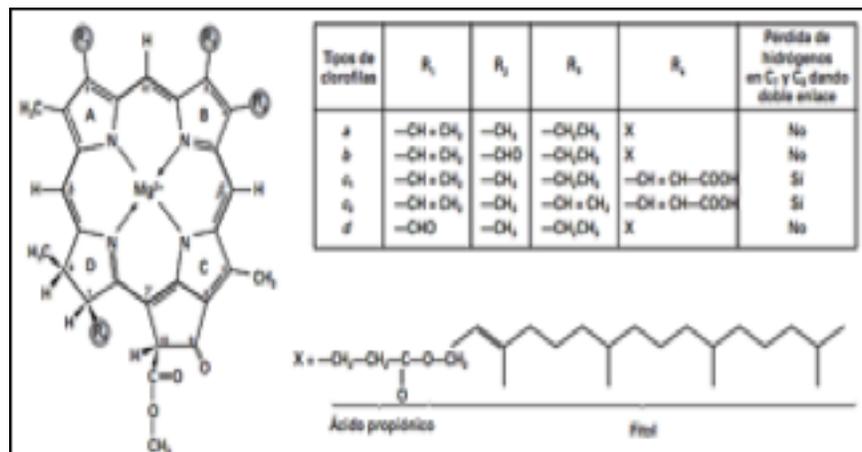
Nota: Figura tomada de (Martínez-García, 2002)

### 2.1.4. Clorofilas

Las clorofilas son compuestos tetrapirrólicos cíclicos con un átomo de magnesio en el centro del sistema de anillos de porfirina que absorbe la luz. Estos pigmentos están contenidos en los fotosistemas I y II, y están encargados de la captación y transferencia de energía luminosa proveniente de longitudes de onda de 440 nm y de 675 nm (Werlinger et al., 2004).

#### Figura 2

Estructura molecular de las clorofilas, en la que se muestran: los dobles enlaces conjugados del anillo porfirínico (que incluye cuatro pirroles A, B, C y D), la unión coordinada al átomo de magnesio, y los distintos radicales (R) que cambian en cada tipo de clorofila: a, b, c1, c2, d.



Nota: Figura tomada de (Azcón-Bieto & Talón, 2008)

**2.1.4.1. Clasificación de las clorofilas (clorofila a y b).** La mejor manera de describir a las clorofilas es por medio de su clasificación más común, clorofilas a (*Chl a*) y b (*Chl b*) - aunque existen otras tres *Chl c*, *Chl d* y *baterioclorofila*- estas dos forman complejos de proteínas de unión a *Chl a / b* que captan la mayor cantidad de luz de todo el fotosistema. Ambas poseen la forma característica de cola hidrofóbica y cabeza hidrofílica y están ubicadas en los cloroplastos de las células vegetales, pero difieren en solo un átomo en su cadena lateral en el tercer carbono, por ejemplo, en la clorofila *Chl a*, el tercer carbono está unido a un grupo metilo mientras que, en la clorofila *Chl b*, el tercer carbono está unido a un grupo aldehído (Azcón-Bieto & Talón, 2008).

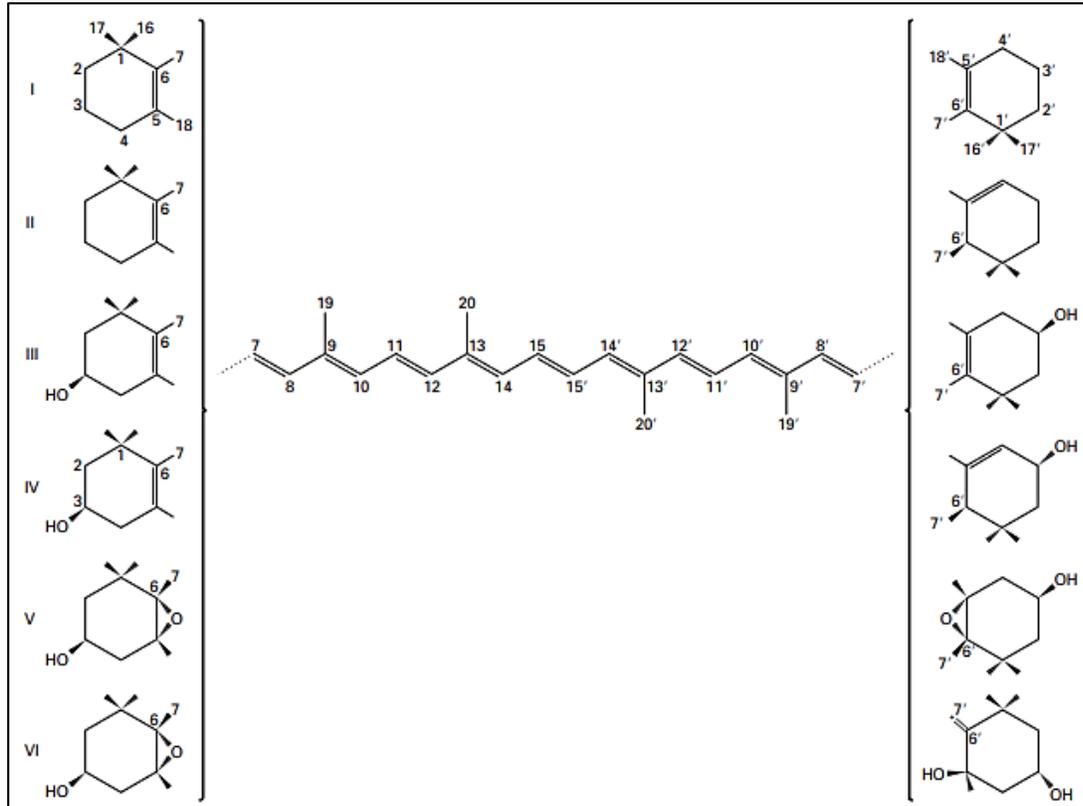
La *Chl a* es el más abundante de todas las clorofilas, está presente en el centro de reacción y en complejos de captación de la luz. La luz de captación de complejos de casi todos los organismos fotosintéticos. Por el contrario, la *Chl b* es característica por su sustitución de formilo en la posición C-7 y se considera como la segunda clorofila más abundante en organismos fotosintéticos oxigenados. En cuanto a los picos de absorción en la *Chl a*, las longitudes de onda del espectro que absorben con mayor eficacia son 429 nm y 659 nm, que son responsables del azul violeta y rojo anaranjado, para las clorofilas *Chl b* es más eficaz en la absorción de las longitudes de onda del espectro son 455 nm y 642 nm, que son responsables de los colores violeta y rojo respectivamente. La clorofila *b* refleja un color amarillo verdoso (Mitch, 2015; Werlinger et al., 2004).

#### **2.1.5. Carotenoides**

Son los principales pigmentos que afectan el color de las hojas de las plantas, los frutos y flores con sus colores verdes normales y distintivos colores amarillo, naranja y algunos rojizos (Tian et al., 2019). Los carotenoides son moléculas liposolubles de 40 carbonos constituidas a partir de subunidades de isoprenos, que se sintetizan en una amplia variedad de sustancias dentro de organismos fotosintéticos y no fotosintéticos. Estos derivados tetraterpénicos presentan dobles enlaces conjugados y un anillo ciclohexano sustituido insaturado en cada extremo de la cadena lineal. Pueden presentar hasta 600 estructuras diferentes conocidas hasta el momento, clasificados de manera general, en carotenoides no oxigenados y carotenoides oxigenados, denominados xantofilas (Pizarro & Stange, 2009; Reol, 2003).

**Figura 3**

*Estructura molecular de los carotenoides más comunes en las hojas: I:  $\beta$ -caroteno; II:  $\alpha$ -caroteno; III: zeaxantina; IV: luteína.*



*Nota* Tomada de Azcón-Bieto y Talón (2008).

Tienen como función principal proteger a las células de la incidencia excesiva de la luz a través de la disipación térmica y suministran sustratos para la biosíntesis del ácido abscísico (una hormona vegetal implicada en la inactividad, maduración y en la tolerancia al estrés abiótico), esta función fotoprotectora se presenta de manera más eficiente que la función de transducción de energía que tan sólo presenta de un 30% a un 40% (Pizarro & Stange, 2009; Reol, 2003). Estos compuestos absorben longitudes de onda corta del espectro visible, en la región entre 400 y 560 nm, presentando coloración amarilla, naranja o roja (Werlinger et al., 2004).

Dicha propiedad es dada por la presencia de 7 o más enlaces dobles conjugados con posibilidad de absorber luz visible, es decir, que la cadena poliénica característica de los

carotenoides es un sistema extenso de dobles enlaces conjugados que alternan enlaces carbono – carbono simples y dobles comportándose finalmente como un cromóforo absorbente de luz que aumenta su recepción de longitudes de onda mientras exista un mayor número de dobles enlaces conjugados (Alquezar, 2008).

Los carotenoides están ubicados en los cloroplastos junto a las clorofilas *a* y *b*, se acumulan en las membranas tilacoidales, específicamente cerca del centro de reacción del fotosistema II en los complejos de recolección de luz (LHC) (Cunningham & Gantt, 1998). Los carotenoides actúan como pigmentos accesorios en el LHC, donde absorben la luz en un rango más amplio del espectro azul (400 - 500 nm) que la clorofila, y transfieren la energía absorbida a la clorofila *a* durante la fotosíntesis. Son de gran importancia no solo en el proceso fotoquímico de las plantas, sino que, por ejemplo, en flores y frutos, la presencia de estas moléculas pigmentadas sirve para atraer a los polinizadores y agentes de dispersión de semillas a los intensos colores amarillo, naranja y rojo que proporcionan (Pizarro & Stange, 2009).

El caroteno más importante en las plantas es el  $\beta$ -caroteno y la luteína es la principal xantofila, pero hay además otras xantofilas que aun no estando en tan alta concentración como los anteriores, juegan un papel decisivo en la disipación de la energía excedente: violaxantina, anteraxantina y zeaxantina (Reol, 2003).

## **2.2. Proteínas**

Las proteínas son moléculas formadas por una larga cadena lineal de L-aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos (González-Torres et al., 2007). Lo que diferencia a una proteína de otra es la secuencia de aminoácidos que la conforman, dicha secuencia se denomina estructura primaria de la proteína. Esta última, es determinante en la función que cumplirá después, pues

existen diversos tipos de proteínas como las enzimas, proteínas reguladoras, estructurales, de señalización, transportadoras, sensoriales, de almacenamiento y defensa (Luque Vilca et al., 2019).

No obstante, la secuencia lineal de aminoácidos es capaz de adoptar variadas ordenaciones en el espacio que se forma por medio del plegamiento del polímero lineal. En parte, el referido plegamiento se desarrolla de forma espontánea, “debido a la repulsión de los aminoácidos hidrófobos por el agua, la atracción de aminoácidos cargados y la formación de puentes disulfuro y también en parte es ayudado por otras proteínas” (Luque Vilca et al., 2019).

De esa manera, la estructura primaria se determina por la secuencia de aminoácidos en la cadena proteica, esto significa, el número de aminoácidos presentes y el orden en que se encuentran enlazados y la manera en que se pliega la cadena se analiza en términos de estructura secundaria (Luque Vilca et al., 2019). Igualmente, las proteínas acogen diferentes posiciones en el espacio, por lo que se describe una tercera estructura. Esta estructura terciaria, por ende, “es el modo en que la cadena polipeptídica se pliega en el espacio, es decir, cómo se enrolla una determinada proteína” (Luque Vilca et al., 2019).

### ***2.2.1. Método de Bradford***

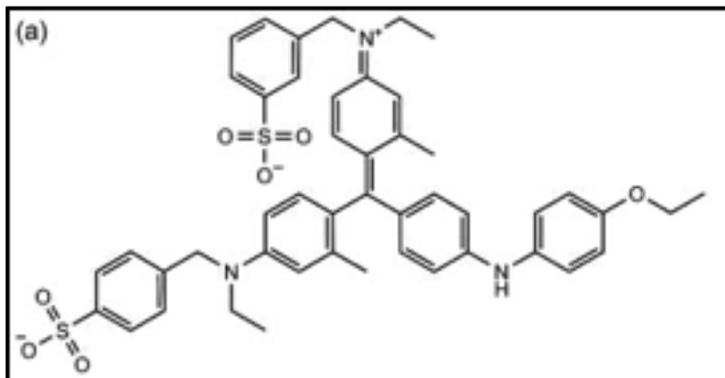
Este ensayo determina y permite la cuantificación rápida y sencilla de proteínas en una muestra de interés. El ensayo se basa en la observación de que el máximo de absorbencia de una solución ácida de Coomassie Brilliant Blue G-250 se desplaza de 465 nm a 595 nm cuando se produce la unión a la proteína. Tanto las interacciones hidrofóbicas como las iónicas estabilizan la forma aniónica del colorante, provocando un cambio de color visible. El ensayo es útil porque el coeficiente de extinción de una solución de complejo de colorante-albúmina es constante en un rango de concentración de 10 veces (Bradford, 1976).

La formación de color observada en el ensayo de Bradford es el resultado de las interacciones entre la proteína y el colorante azul de Coomassie G-250 (Figura 4). En condiciones ácidas, el colorante es rojo en su estado protonado. A través de interacciones electrostáticas e hidrofóbicas con una molécula de proteína, se estabiliza la forma azul aniónica (-1 carga neta) del colorante (Brady & Macnaughtan, 2015).

La intensidad del color formado por estos ensayos se mide por fotometría de absorbancia a 595 nm para los ensayos de Bradford. Normalmente, se utilizan soluciones estándar de albúmina de suero bovino (BSA) (Brady & Macnaughtan, 2015).

#### Figura 4

*Estructuras del colorante azul de Coomassie G-250 en su forma azul, aniónica (-1 carga neta).*



*Nota Tomada de Brady y Macnaughtan (2015).*

### 2.3. Carbohidratos

Los carbohidratos son moléculas compuestas de carbono, hidrogeno y oxígeno en una proporción aproximada de un átomo de carbono (C) por cada molécula de agua (H<sub>2</sub>O). Las principales funciones de los carbohidratos o glúcidos son proporcionar energía inmediata y los polímeros glucídicos insolubles actúan como estructura y protección de las paredes celulares en los vegetales. hacer parte de la función estructural. Según la complejidad de la molécula, por ejemplo, de la longitud de sus cadenas, pueden clasificarse en monosacáridos, oligosacáridos y

polisacáridos. Como también se pueden subclasificar otras biomoléculas como derivados de monosacáridos, heteropolisacáridos, peptidoglicanos, glucoproteínas y glicolípidos (Nelson & Cox, 2015).

Los monosacáridos, o azúcares simples, consisten en una sola unidad de polihidroxialdehído o cetona, el más común y abundante en la naturaleza es la glucosa. Presentan las siguientes propiedades: son sólidos neutros, incoloros, cristalinos, solubles en agua, poco solubles en alcohol e insolubles en general en acetona, éter, y demás solventes apolares; generalmente con sabor dulce. Algunos ejemplos conocidos de monosacáridos son la glucosa (principal combustible energético celular), la galactosa, la fructosa o la ribosa, entre otros. Los monosacáridos se clasifican de acuerdo con tres características diferentes: la posición del grupo carbonilo, el número de átomos de carbono que contiene y su quiralidad (Melo & Cuamatzi, 2020).

Por otra parte, los oligosacáridos consisten en cadenas cortas de unidades de monosacáridos residuos unidos por característicos enlaces glucosídicos, sin embargo, los más abundantes son los disacáridos, formados por dos unidades de monosacárido. La mayor parte con dos o tres unidades de monosacárido no se encuentran libres en la célula sino unidos a lípidos o proteínas.

Los polisacáridos son cadenas, ramificadas o no, de más de veinte monosacáridos y resultan de la condensación de muchas moléculas de monosacáridos con la pérdida de varias moléculas de agua, como el almidón o la celulosa. Los polisacáridos representan una clase importante de polímeros biológicos y su función en los organismos vivos está relacionada usualmente con estructura o almacenamiento (Nelson & Cox, 2015).

### **2.3.1. Método DNS**

El método colorimétrico del ácido dinitrosalicílico (DNS) proporciona una estimación rápida y sencilla del grado de sacarificación midiendo la cantidad total de azúcares reductores en el hidrolizado. Sin embargo, está sujeto a la interferencia del buffer de citrato y de otras sustancias y por las diferentes reactividades de los distintos azúcares reductores. Estas interferencias se hacen más evidentes cuando se emplean sustratos complejos (Marsden et al., 1982).

A través del método DNS es posible determinar la presencia de grupos carbónicos libres (C=O) de los azúcares reductores. El procedimiento para su realización está basado en una reacción redox, que ocurre en la utilización de ácido 3,5 dinitrosalicílico para inducir la oxidación de los azúcares y paralelamente su propia reducción endotérmica. Una mol de azúcar reacciona con una mol de ácido 3,5 dinitrosalicílico, originando una reacción estequiométrica que da la oportunidad de saber cuál es la cantidad de azúcares reductores que se encuentran presentes en la muestra. Posteriormente, se sigue con la determinación, realizando lecturas de absorbancia en el espectrofotómetro a 540 nm (Montañez, 2020).

Vale señalar que la reacción es colorimétrica, el ácido 3.5 dinitrosalicílico es de color amarillo, mientras que la aparición de ácido 3-amino, 5-nitrosalicílico provoca un cambio a pardo oscuro, cuya intensidad será directamente proporcional a la cantidad de azúcares reductores (Mandre et al., 1998).

### **2.4. Fenoles**

Los compuestos fenólicos están formados por un anillo aromático unido por lo menos a un grupo hidroxilo y contienen al menos un grupo fenol. La estructura más sencilla es la del ácido benzoico, pero con otros sustituyentes en el anillo se forman ácidos fenólicos como el cafeico,

ferúlico, fumárico y cinámico, comunes en los vegetales y en el propóleo (Sobiesiak, 2017). Dicha composición les proporciona propiedades bactericidas, fungicidas y antivirales.

Los fenoles constituyen probablemente el mayor grupo de metabolitos secundarios de las plantas y son sintetizados por la ruta del ácido shikímico o la vía del ácido malónico. Los metabolitos secundarios además de no tener una función definida en procesos como la fotosíntesis, síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos, difieren también de los primarios, en que ciertos grupos no presentan una distribución uniforme en las plantas, es decir, no todos los metabolitos secundarios se encuentran en todos los grupos de plantas. Se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando a menudo su producción restringida a un determinado género de plantas, a una familia, o incluso a algunas especies (Pérez-Urria Carril & Ávalos García, 2009).

Pueden variar en tamaño desde una estructura simple con un anillo aromático hasta otras complejas como las ligninas. Aunque muchos de los aceites esenciales son terpenos, algunos son compuestos fenólicos. Muchos fenoles simples son responsables del sabor (*Pharmacology - 1st Edition*, s. f.). Se denominan fenilpropanoides porque se originan a partir de la fenilalanina y tienen una estructura de seis carbonos (C6) y tres carbonos (C3). En este sentido, estos pueden estar clasificados en varios grupos como: fenoles simples, quinonas, naftoquinonas, taninos, flavonoides, entre otros (*Pharmacology - 1st Edition*, s. f.).

#### ***2.4.1. Método de determinación de fenoles***

El método utilizado con mayor frecuencia para determinar la cantidad de fenoles en alimentos y vegetales es el ensayo de Folin-Ciocalteu (Avella et al., 2008).

Es un ensayo antioxidante basado en la transferencia de electrones, que mide la capacidad reductora de un antioxidante. Se ha aplicado ampliamente en la determinación del contenido total de fenoles y polifenoles de alimentos derivados de plantas y muestras biológicas.

El método de Folin-Ciocalteu está basado en la capacidad que poseen los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo utilizado contiene molibdato y tungsteno sódico, estos reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. La transferencia de electrones a pH básico es capaz de reducir los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno ( $W_8O_{23}$ ) y molibdeno ( $Mo_8O_{23}$ ), siendo directamente proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula (Avella et al., 2008).

### **2.5. El maíz, *Zea mays* L.**

El maíz (*Zea mays* L), un importante material industrial y fuente de alimento, muestra una asombrosa adaptación ambiental. Un rasgo notable de su adaptación posterior a la domesticación desde ambientes tropicales a templados es la adaptación a un fotoperiodo largo (LP) (Wu et al., 2016). Un determinante notable que permitió la propagación del maíz a través de las latitudes fue la adaptación posterior a la domesticación a los cambios en las horas de luz (Piperno et al., 2009; Van Heerwaarden et al., 2011). Bajo los días más largos experimentados en latitudes más altas, los cultivos de maíz tropical no florecen o muestran un retraso en la floración (Betrán et al., 2003). Las plantas integran señales procedentes de vías reguladoras endógenas o del entorno para modular el momento de la floración (Colasanti & Coneva, 2009).

Taxonómicamente, el maíz corresponde a la familia Poaceae, de orden Poales, de características angiospermas monocotiledóneas (Guacho A., Edison F., 2014). A nivel botánico, las características de esta planta van desde tener unas raíces fasciculadas con perfecto anclaje que en ocasiones sobresalen del suelo. El tallo es simple, erecto en forma de caña y macizo en su interior, tiene una longitud elevada pudiendo alcanzar los 4 metros de altura, además es robusto y no presenta ramificaciones. Las hojas son largas, lanceoladas, alternas y de gran tamaño, se

encuentran abrazando al tallo y con presencia de vellosidad en el haz, además los extremos de las hojas son muy afilados y cortantes. Gracias a lo anterior, les permite captar eficientemente la luz solar.

Los granos de maíz son fuente principal de carbohidratos, proteínas, fibras, vitaminas y minerales, contienen a su vez, una variedad de fitoquímicos como compuestos fenólicos, fitoesteroles y carotenoides que pueden proporcionar efectos que promueven la salud y tienen el potencial de reducir el riesgo de varias enfermedades crónicas como la diabetes, enfermedades coronarias o algunos tipos de cáncer (Guacho A., Edison F., 2014).

En Colombia, el maíz es el tercer cultivo con mayor superficie de siembra después del café y el arroz; ocupa el primer lugar en volumen de importaciones en Suramérica con importaciones del 74% de la demanda nacional y ocupa el séptimo lugar a nivel mundial. El maíz tiene una dimensión social importante en la alimentación de millones de colombianos, aportando el 9% del suministro diario de energía de su dieta, ya que en promedio un colombiano consume 30 kg de maíz al año (Govaerts et al., 2019).

### **3. Metodología**

En las siguientes fases metodológicas se buscó implementar un protocolo óptimo para la germinación de las plántulas de *Zea mays L* para la posterior extracción y cuantificación de los metabolitos de interés, pigmentos fotosintéticos, proteínas, carbohidratos y fenoles.

#### **3.1. Fase 1: Implementación de un protocolo para germinación de plántulas de *Zea mays L*.**

##### **3.1.1. Germinación y crecimiento de las plántulas de *Zea Mays L* bajo condiciones de luz visible**

Para la germinación del material vegetal y la evaluación del efecto de diferentes longitudes de onda sobre la síntesis de pigmentos fotosintéticos, proteínas, carbohidratos y fenoles, se

## EFECTO DE LA LUZ SOBRE LA SÍNTESIS DE BIOMOLÉCULAS EN MAÍZ *Zea mays* L.29

utilizaron semillas de *Zea mays* L de la variedad ICA V-305 (Semillas RBC S.A.S, con registro ICA distribuidor: 1233/12022019, pureza del 95% y germinación del 85%). En primer lugar, se seleccionaron semillas con apariencia, tamaño y peso semejantes, posteriormente, se hidrataron con agua e hipoclorito de sodio durante 6 horas y, finalmente, 15 minutos en nistatina, para inhibir el crecimiento de hongos.

En una cámara climatizada FARFLOW® (Farmoquing S.A.S. Bogotá, Colombia), previamente desinfectada, se ajustaron las condiciones de la cámara para el crecimiento de las plántulas a 24°C +/- 1°C y 80% +/-5% de humedad relativa (Diaz & Gelves, 2021). Todo esto con el fin de mantener condiciones controladas en el proceso de germinación, evitar contaminación de hongos, luz externa o variaciones bruscas de temperatura y humedad, pues lo anterior puede afectar significativamente la germinación y crecimiento de las plántulas.

Se realizó el cultivo de las semillas en botellas plásticas de 400 mL, lavadas con agua y jabón y desinfectadas con hipoclorito de sodio 0.26%. Una vez secas, se partieron a los 9.5 cm de abajo para arriba y la parte superior, el pico de la botella, se giró y se introdujo en la parte inferior de la botella. Esta botella, tiene una altura de 21 cm en la cual, se depositaron en el fondo alrededor de 160 mL de agua y en la parte superior, una capa de algodón de 6 x 6 cm (apéndice Aa). Se humedeció el algodón con el fin de poder ubicar las dos semillas por montaje, las cuales se ubicaron separadamente para diferenciar una plántula de la otra (apéndice Ab), con el fin de permitir el movimiento de sus raíces y evitar interferencias.

En el diseño experimental se usaron luces con diferentes rangos de luz visible, blanca, azul y roja (lámparas LED, 10 W, índice de color  $\geq 70$ , 70 - 80 Lm/W, longitud de 57 cm) y, ausencia total de iluminación. Las lámparas LED fueron ubicadas a una distancia de los montajes de 1.15 m y entre cada uno de ellos, de 5.5 cm. Se empleó la exposición de las plántulas a la luz en

fotoperiodos de 12 horas/12 horas oscuridad, durante 11 días. Finalmente, se llevó a cabo una observación macroscópica y de registro de las características principales de cada plántula después del periodo de germinación, tales como el tamaño de las hojas y la coloración de estas.

### ***3.1.2. Medición de espectros de emisión y potencia de las lámparas LED***

Haciendo uso de un espectrómetro Avaspec – 2048L (Avantes. Apeldoornm Países bajos) se tomaron los espectros de emisión de cada lámpara a una distancia de 5 cm con el fin de registrar el rango en el espectro electromagnético e intensidad a la que se expusieron los montajes de las muestras vegetales. Adicional, se midieron las potencias de cada una de ellas con un vatímetro Nova (Ophir optronics solutions Ltd. Massachusetts, EE. UU.) a una distancia de las lámparas de 1.15 m.

Se calculó la irradiancia (potencia de la luz incidente por área) de las lámparas empleadas y los resultados obtenidos (apéndice B).

### **3.2. Fase 2: Pulverización del tejido vegetal**

Para la pulverización del tejido vegetal, se tomaron hojas de cada montaje (apéndice C) y se trituraron en un mortero utilizando nitrógeno líquido hasta obtener un triturado fino y sin pedazos de hoja muy grandes; se hizo bajo las mismas condiciones de luz y en un periodo de tiempo muy corto para evitar degradación de los pigmentos o contaminación de otras longitudes de onda del entorno. La muestra de las hojas se distribuyó en tubos Eppendorf de 1.5 mL para determinar el contenido de pigmentos, proteínas, carbohidratos y fenoles totales. Las muestras se almacenaron en un ultra congelador a una temperatura de -80 °C, para posterior liofilización. Una vez liofilizadas, se conservaron en un tubo Eppendorf cubierto de aluminio y a temperatura regulada con esferas absorbentes de humedad (AU - Salem et al., 2017).

### **3.3. Fase 3: Extracción de los pigmentos fotosintéticos**

El método de extracción utilizado se basó en una separación de fases líquido - líquido en donde se utilizaron dos solventes inmiscibles, uno de ellos el dietil éter y el otro el buffer fosfato. En la fase apolar se separaron los compuestos apolares (clorofilas y carotenoides). En la fase polar se localizaron las proteínas y carbohidratos.

Para dicha extracción, se tomaron alrededor 10 mg de las hojas pulverizadas y secas, se depositaron en un tubo Eppendorf y se agregó 1 mL de dietil éter, posterior agitación en un mezclador vortex hasta que el tejido estuviese bien homogenizado dentro de la mezcla de extracción. Este paso fue de gran importancia con el objetivo de precipitar proteínas e inactivar sus actividades enzimáticas. Posteriormente, se incubaron todas las muestras en un agitador orbital a 200 rpm durante 45 minutos a 4°C (AU - Salem et al., 2017).

Luego, se realizó la sonicación de las muestras durante 15 minutos en un baño de sonicación enfriado con hielo. Se añadió 1 mL de buffer fosfato (0.1M) a pH 7 a cada tubo Eppendorf e inmediatamente se mezcló bien en el vortex durante 1 min. Seguidamente, se centrifugaron las muestras a una velocidad de 20000 x g durante 5 min a 4 °C.

NOTA: Después de este paso, hay dos fases líquidas inmiscibles con un pellet sólido en el fondo del tubo. El sobrenadante (solución verdosa), una segunda fase que careció de coloración y el sólido en el fondo. Con el fin de evitar la mezcla de las dos fases líquidas y el rompimiento del pellet precipitado, se manipularon todas las muestras con sumo cuidado (AU - Salem et al., 2017).

Para la medición de pigmentos, se extrajo la parte del sobrenadante (solución verdosa) en el que se encontraban contenidos dichos pigmentos, se llevó a un nuevo tubo Eppendorf y posterior centrifugación. Para la medición de proteínas y carbohidratos, se extrajo la segunda fase incolora, se llevó a un nuevo tubo eppendorf y posterior centrifugación.

### 3.4. Fase 4: Medición del contenido de pigmentos fotosintéticos

Para ejecutar las mediciones espectrofotométricas, con el extracto acuoso obtenido en la fase 3, se procedió a determinar la absorbancia, haciendo uso de un espectrofotómetro Shimadzu (Shimadzu corporation, Montevideo, Uruguay) y las longitudes de onda de 662 nm, 644 nm y 470 nm correspondientes al máximo de absorción de las clorofilas *a*, *b* y carotenoides, respectivamente. El blanco consistió en dietil éter. Se registró el espectro de absorción de los pigmentos extraídos, los cuales se graficaron haciendo uso del promedio de cada tratamiento (apéndice D).

#### 3.4.1. Cuantificación de pigmentos fotosintéticos

Los pigmentos fotosintéticos se determinaron por medio de métodos espectrofotométricos obteniendo así un espectro de absorción de cada tratamiento (figura 6) y para su cuantificación se utilizó la expresión establecida por Lichtenthaler (Lichtenthaler & Wellburn, 1983), en la cual se tienen en cuenta los coeficientes de extinción de clorofilas. Las expresiones utilizadas fueron las siguientes:

$$Ca = 10,05 A_{662} - 0,766 A_{644} \quad (3.1)$$

$$Cb = 16,37 A_{644} - 3,14 A_{662} \quad (3.2)$$

$$Cx + c = \frac{1000 A_{470} - 1,28 Ca - 56,7 Cb}{230} \quad (3.3)$$

Las concentraciones de las clorofilas *a*, *b* y carotenoides, obtenidas para los diferentes tratamientos de luz (apéndice E).

### 3.5. Fase 5: Medición del contenido de proteínas mediante el método de Bradford

Previo a la medición del contenido de proteínas mediante el método de Bradford se preparó el reactivo de Bradford de la siguiente manera: Se pesaron 100 mg de Coomassie Brilliant Blue G-250 y se disolvieron en 50 mL de Etanol al 95%. Se agregaron 100 mL del Ácido fosfórico al

85%, para finalmente, llevarlo a un volumen de 1 L con agua destilada. Luego, se prepararon los patrones a partir de una solución madre de BSA 0.1 mg/mL siguiendo la tabla de patrones (apéndice F).

El blanco consistió en 250  $\mu$ L de buffer fosfato (0.1M, pH 7) y 2500  $\mu$ L del reactivo de bradford preparado anteriormente. Se midió la absorbancia a 595 nm para cada patrón (apéndice G) y se realizó la curva de calibración (apéndice H). Para la medición de absorbancia en la muestra, se llevó a cabo el mismo procedimiento, reemplazando el patrón de BSA por muestra biológica contenida en buffer fosfato obtenida en la extracción (ver fase 3) y se determinó la concentración de proteínas expresado en microgramos por miligramos de muestra seca (apéndice E) (Kruger, 2009).

### **3.6. Fase 6: Medición del contenido de carbohidratos mediante el método DNS**

Antes de realizar la medición del contenido de carbohidratos mediante el método DNS se preparó el reactivo DNS de la siguiente manera: Se pesaron 5 g de ácido 3,5 dinitrosalicílico, 150 g de tartrato de Na-K y 8 g de NaOH. Se disolvió el NaOH en 200 mL de agua destilada y se añadió en agitación el tartrato de Na-K lentamente. Se completó con agua hasta 400 mL para comenzar a añadir lentamente el ácido 3,5 dinitrosalicílico. Se dejó en agitación, se llevó finalmente a un volumen de 500 mL y se filtró posteriormente. Seguidamente, se preparó una solución estándar de glucosa 1.0 g en 500 mL (Núñez et al., 2012), posteriormente se llevó a cabo la preparación de los patrones (apéndice I).

A cada solución patrón se le agregaron 250  $\mu$ L de reactivo DNS, incluido al blanco, y se llevaron a calentamiento en baño maría por 5 minutos, posteriormente, se dejó enfriar por 5 minutos. Luego, se agregó 2.5 mL de agua destilada y se sometieron a proceso de agitación. La absorbancia

de cada muestra patrón fue registrada a 540 nm (apéndice J) y se construyó la curva de calibración con los datos obtenidos (apéndice K) (Núñez et al., 2012).

Las muestras biológicas fueron medidas bajo los mismos parámetros anteriores: una muestra de 250  $\mu$ L, 250  $\mu$ L de reactivo DNS, calentamiento por 5 minutos, enfriamiento por otros 5 minutos y finalmente, 2,5 mL de agua destilada. Se determinó la concentración de azúcares reductores expresado en microgramos por miligramos de muestra seca (apéndice E) (Núñez et al., 2012).

### **3.7. Fase 7: Medición del contenido de fenoles mediante el método Folin - Ciocalteu**

Antes de llevar a cabo el método, a la muestra se le realizó el siguiente tratamiento: Se tomaron 10 mg de muestra previamente macerada en nitrógeno líquido y liofilizada, se le agregaron 2 mL de metanol (grado HPLC), se agitó por 30 minutos y se centrifugó por 5 minutos a 14500 rpm. El reactivo de Folin-Ciocalteu (concentración: 1.24 kg/L, Merck S.A) fue diluido 1/10 en agua destilada. Una solución de carbonato de sodio fue preparada a una concentración de 7.5% m/v.

El ácido gálico fue utilizado como patrón y para el blanco fue la ausencia de este, se llevó a cabo la preparación de los patrones (apéndice L), se tomaron las absorbancias de los mismos (apéndice M) y finalmente, se construyó la curva con los datos obtenidos (apéndice N).

A continuación, para la medición de las muestras se reemplazó el patrón de ácido gálico por 150  $\mu$ L de muestra obtenida del tratamiento con metanol y se completaron los 225  $\mu$ L con agua destilada, quedando así la solución de la muestra con un factor de dilución de 3/2. Una vez adicionados todos los reactivos y la muestra, se dejó incubar la reacción de la curva en completa oscuridad por 1 hora. Una vez transcurrida esta hora, se procedió a medir las absorbancias de la

curva a 765 nm (apéndice D). Se determinó la concentración de fenoles expresados en microgramos por miligramos de masa seca (apéndice E).

### **3.8. Análisis estadístico**

Un análisis de varianza de una vía (ANOVA) fue aplicado a todo el conjunto de datos para determinar diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, con un nivel de confianza del 95%. Prueba de rangos múltiples fue aplicado para determinar las diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ). Previo al análisis de varianza el conjunto de datos fue evaluado para satisfacer los supuestos estadísticos, prueba de homogeneidad de varianzas (Levene's test,  $p > 0.05$ ) y prueba de distribución normal de los datos. Transformación logarítmica ( $\log_{10}$ ) fue aplicada a aquellos grupos de datos que no cumplieron los supuestos estadísticos y, un análisis de varianza Kruskal-Wallis se realizó cuando el grupo de datos no cumplió los parámetros. Para todos los experimentos, siete réplicas biológicas fueron evaluadas por tratamiento. Stagraphics 19 Centurion Version 19.2.02 (2010 StatPoint Technologies, Inc. Estados Unidos de América) fue utilizado para el tratamiento estadísticos de los datos (apéndice O).

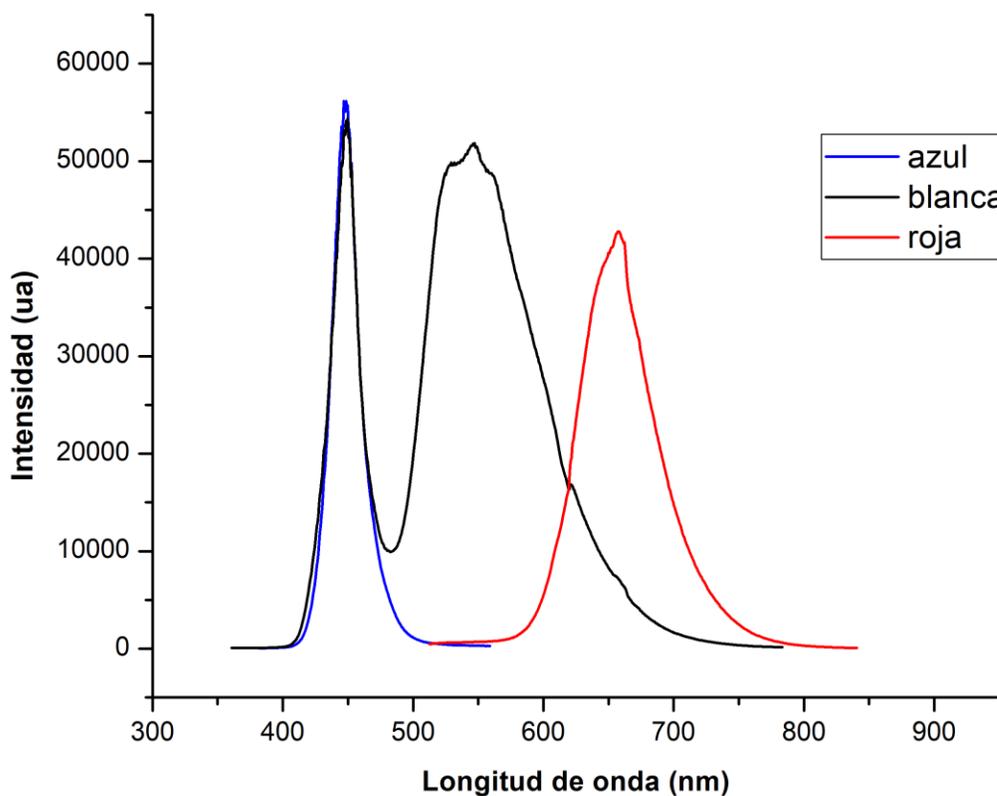
## 4. Resultados y Discusión

### 4.1. Lámparas LED

Se midió el espectro de emisión de las lámparas LED (figura 5).

#### Figura 5

*Espectro de emisión de las lámparas LED utilizadas. Longitud de onda en nanómetros en función de la intensidad en unidades arbitrarias.*



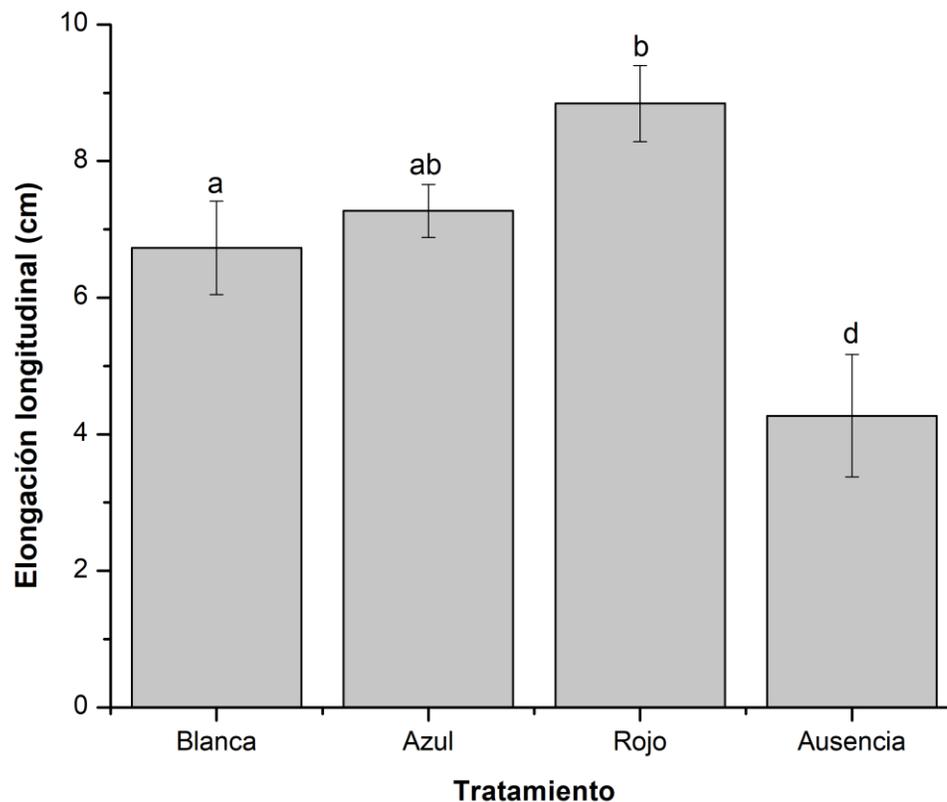
Se evidenció que la LED de luz blanca presentó dos máximos de emisión, uno que cubre las longitudes de onda aproximadamente entre 400 y 490 nm y el otro entre 500 y 700 nm. El primer máximo de emisión de esta lámpara de luz blanca coincide con el máximo de emisión de la lámpara de luz azul. Y en la lámpara LED de luz roja se presentó una banda de emisión entre 560 y 770 nm.

#### 4.2. Germinación y características morfológicas

Se evidenció las plántulas de maíz germinadas en ausencia y en presencia de luz blanca, azul, roja con fotoperiodos de 12 horas de irradiación y 12 horas de oscuridad, presentaron cambios en su crecimiento, desarrollo, la altura de la planta, largo de las hojas y color.

##### Figura 6

*Efecto de los diferentes tratamientos de iluminación sobre el tamaño promedio de las hojas (cm). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) y las barras corresponden al error estándar.*



Se observó un mayor elongación longitudinal de las hojas durante la exposición a la luz roja ( $8.84 \pm 0.55$  cm), respecto al tratamiento con luz azul ( $7.27 \pm 0.39$  cm), luz blanca ( $6.73 \pm 0.68$  cm) y ausencia de ésta ( $4.27 \pm 0.89$  cm) (Figura 6). Los resultados muestran el efecto negativo de la ausencia de iluminación sobre el crecimiento y desarrollo de las hojas, siendo drásticamente

significativo con respecto a los demás tratamientos ( $p < 0.05$ ), dándose de igual forma en los entre los tratamientos con luz blanca y roja.

En cuanto a la morfología de la planta se pudo observar que, en las plántulas germinadas bajo luz roja, las hojas tuvieron una mayor elongación longitudinal (Figura 6), seguido de las hojas con los tratamientos de luz azul, blanca y finalmente, en ausencia de luz.

Se sugiere que debido a la presencia de fotorreceptores como los fitocromos, capaces de absorber a esta longitud de onda, se da un incremento mucho mayor en dicha elongación bajo este tratamiento puesto que está involucrado en la percepción de cambios en el ambiente lumínico, percibiendo la disminución o aumento de luz roja y roja lejana y así conducen a un incremento en la tasa de alargamiento del tallo y hojas para disminuir el riesgo de sombreado y menor absorción de luz (Yanovsky, 1999).

La respuesta de las plantas para adaptarse a la calidad de la luz a la que están expuestas depende de una compleja red de interacciones entre múltiples fitohormonas (Weller et al., 2015), las cuales se encargan de la regulación del crecimiento, el desarrollo y las respuestas al estrés; entre estas se encuentran el etileno (ET), giberelina (GA), entre otras (Peleg & Blumwald, 2011). La giberelina es una fitohormona encargada de aumentar el desarrollo y la elongación de raíces y hojas; el ácido giberélico (GA3), uno de los tipos de giberelinas, cumple un papel importante en el alargamiento de los segmentos nodales ya que permite estimular la elongación celular en respuesta a las condiciones de luz y oscuridad (Alcantara-Cortes et al., 2019). Por otro lado, el etileno está también encargado de la regulación y maduración de las hojas (Alcantara-Cortes et al., 2019) debido a que activa una vía de inhibición del crecimiento que se satura gradualmente con la luz, fenómeno descrito por Zhong (2012). La actividad de estas dos fitohormonas principalmente puede estar relacionada con los resultados obtenidos (figura 6), debido a que, se evidenció una

menor elongación longitudinal en las hojas de las plántulas germinadas en ausencia de luz (Zhong et al., 2012). Contrario de tratadas con luz roja, ya que, fueron las de mayor elongación longitudinal, esto se asocia con lo descrito por OuYang (2015) en donde concluyó que la incidencia de luz roja puede promover el crecimiento del tallo y hojas aumentando la biosíntesis de giberelinas y disminuyendo la del ácido indolacético (OuYang et al., 2015).

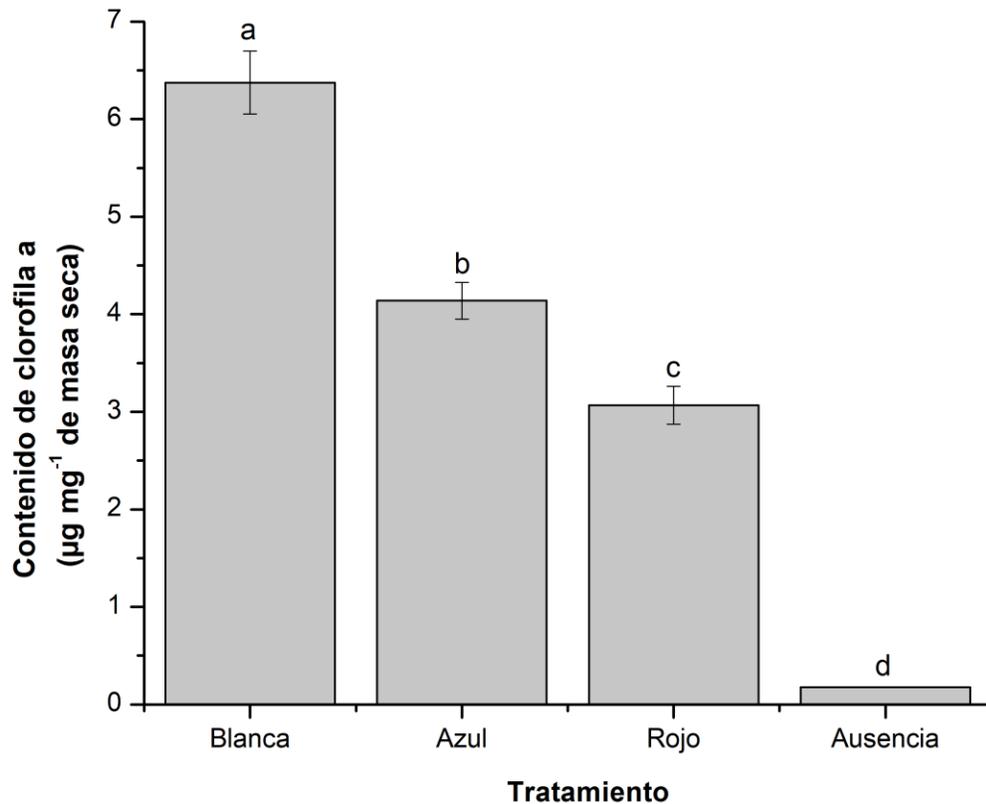
Las hojas y tallos de las plántulas germinadas bajo tratamiento de luz blanca fueron las que presentaron una coloración verde lo largo de todo su tejido (apéndice P) y una biomasa mucho mayor respecto a la de los demás tratamientos (medido como la cantidad de material vegetal obtenido) (apéndice Q). Las plántulas tratadas con luz azul y roja, aunque también tuvieron una coloración verde tuvieron una leve pigmentación roja o decoloración en sus tallos (apéndice R), y una menor biomasa respectivamente. Finalmente, las plantas germinadas en ausencia de luz, desarrollaron tallos incoloros y hojas levemente amarillas, de menor tamaño, biomasa y rigidez en relación con las de los tejidos de luz blanca, azul y roja respectivamente.

#### **4.3. Cuantificación de pigmentos fotosintéticos**

Se evaluó el efecto del tipo de luz empleado en la germinación cuantificando la concentración de los pigmentos fotosintéticos haciendo uso de los coeficientes de extinción (ver fase 4).

**Figura 7**

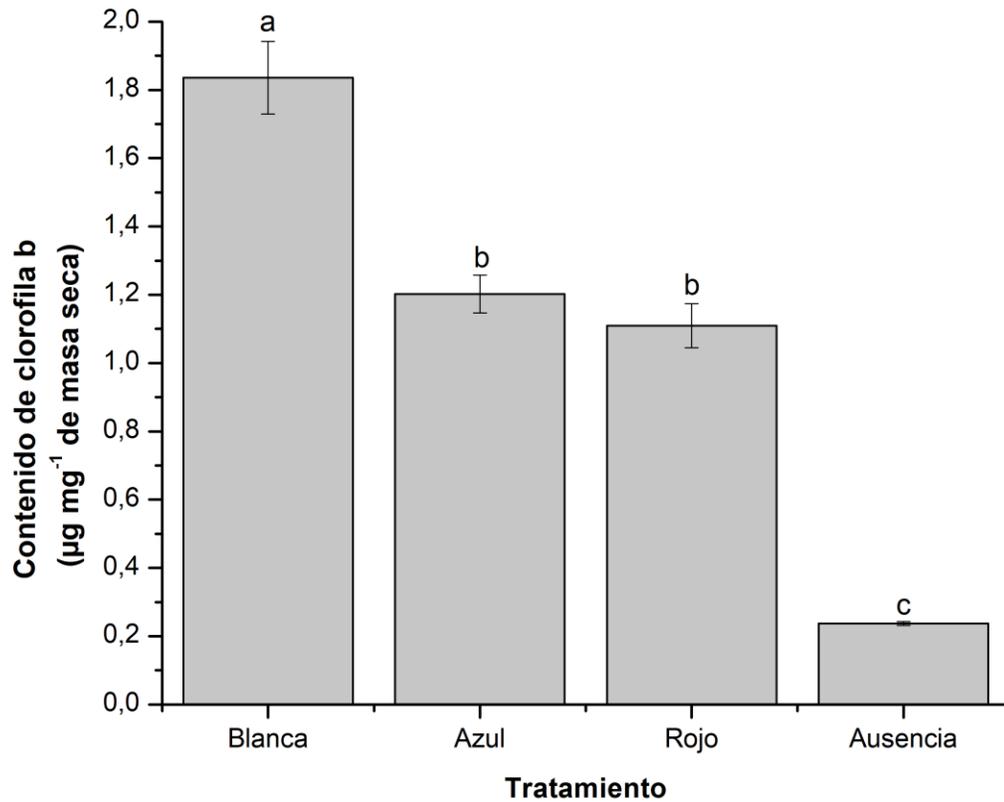
Efecto de los diferentes tratamientos de iluminación sobre el contenido de clorofila *a* ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) y las barras corresponden al error estándar.



Se observó un contenido de clorofila *a* significativamente mayor en el tratamiento con luz blanca ( $6.27 \pm 0.32 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca), respecto al contenido en el tratamiento de luz azul ( $4.13 \pm 0.18 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca), luz roja ( $3.06 \pm 0.19 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca) y ausencia de esta ( $0.17 \pm 0.004 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca) (Figura 7). Entre todos los grupos hubo diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) (apéndice O).

**Figura 8**

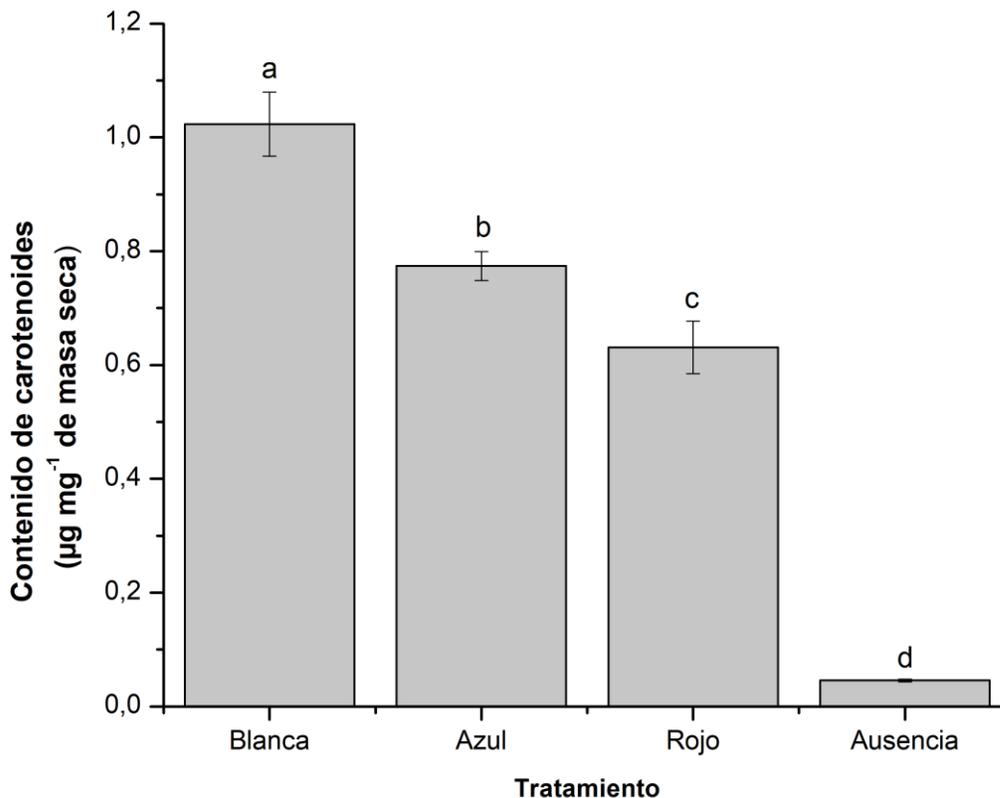
Efecto de los diferentes tratamientos de iluminación sobre el contenido de clorofila *b* ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) y las barras corresponden al error estándar.



El contenido de clorofila *b* fue significativamente mayor en el tratamiento con luz blanca ( $1.83 \pm 0,10 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca) con respecto al contenido en el tratamiento de luz azul ( $1.20 \pm 0,05 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca), luz roja ( $1.10 \pm 0,06 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca) y ausencia de esta ( $0.23 \pm 0,005 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca) (Figura 8). Los tratamientos de luz azul y roja no tuvieron diferencias estadísticamente significativas entre si ( $p > 0.05$ ) (apéndice O).

**Figura 9**

Efecto de los diferentes tratamientos de iluminación sobre el contenido de carotenoides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) y las barras corresponden al error estándar.



El contenido de carotenoides en el tratamiento con luz blanca ( $1.02 \pm 0.05 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca) fue considerablemente mayor respecto al contenido en el tratamiento de luz azul ( $0.77 \pm 0.02 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca), luz roja ( $0.63 \pm 0.04 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca) y ausencia de esta ( $0.04 \pm 0.002 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca) (Figura 9), encontrando así diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) (apéndice O).

La luz solar es absorbida por los pigmentos fotosintéticos, siendo las clorofilas *a* los más abundantes en los vegetales, como ya se sabe estos van acompañados de pigmentos secundarios como los carotenoides, usualmente en menor proporción y con una función protectora, estos

empiezan a sintetizarse a medida que la planta comienza su proceso de fotosíntesis (Nelson & Cox, 2015; Reol, 2003).

Se encontró que las hojas que tuvieron una mayor concentración de pigmentos fueron las expuestas a la luz blanca, seguidas de las tratadas con luz azul, roja y finalmente, en ausencia; lo que indicó que, sí hubo un efecto del tratamiento de luz al que se sometieron los diferentes montajes sobre la síntesis de los pigmentos de interés.

Debido a que los rangos de máxima absorción de radiación electromagnética tanto de las clorofilas *a*, *b* como de los carotenoides (Figura 1) coincidieron con los rangos de emisión de las lámparas utilizadas en cada tratamiento (Figura 6), se evidenció la presencia de cada uno de dichos pigmentos. Contrario a la concentración de pigmentos en el tratamiento en ausencia de luz, resultados que coinciden con lo descrito por Nelson & Cox (2015), indicando que la mayoría de las plantas no pueden sintetizar clorofilas y pigmentos accesorios sin un estímulo lumínico, ya que, como lo menciona Cooper (2010) las plantas al ser germinadas en la oscuridad detienen el desarrollo de los proplastidos en un estado intermedio denominado etioplasto, generando la clorosis de las hojas (Cooper et al., 2010; Yue et al., 2021).

La concentración de pigmentos en los tratamientos de luz azul y roja tuvo diferencias significativas, siendo la concentración de pigmentos en luz azul mayor. Esto se podría relacionar con la intensidad de emisión de la lámpara azul (apendice) y con lo mencionado por Carrillo en donde se expone que los criptocromos al ser fotorreceptores de la luz azul, favorecen el rendimiento vegetativo e incrementan la densidad estomática y su apertura, lo cual permite aumentar la incorporación de CO<sub>2</sub> estimulando el proceso de la fotosíntesis, así como la reorientación de cloroplastos intracelularmente y el fototropismo (Carrillo, s. f.)

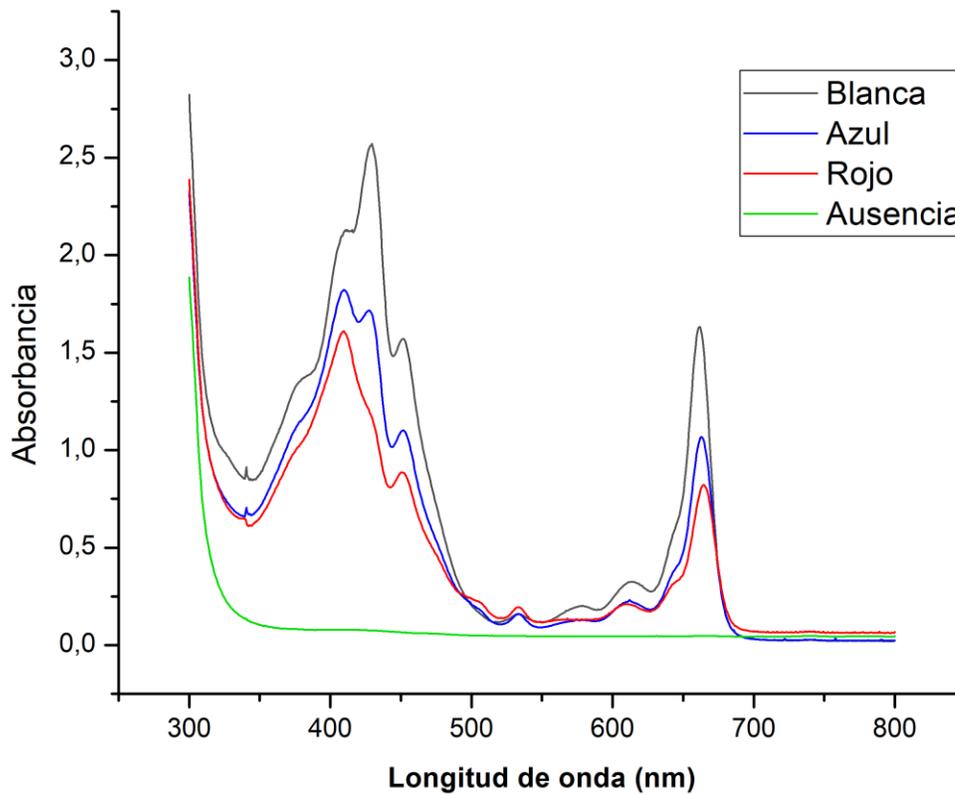
La concentración de clorofila *a* siempre será mayor que de los demás pigmentos, sin importar al tratamiento de luz que se sometan, debido a que estos pigmentos están localizados a lo largo de toda la superficie del tejido vegetal (Azcón-Bieto & Talón, 2008; Nelson & Cox, 2015). La clorofila *b* se encuentra en la planta con funciones claras de proteger el pigmento principal, la clorofila *a*, del exceso de exposición a la luz como también de complementar la absorción de longitudes de onda de la misma, evitando así saturación o daños del mismo (Azcón-Bieto & Talón, 2008; Nelson & Cox, 2015).

La síntesis de los pigmentos está regulada por la señal luminosa. Bajo diferentes condiciones de calidad de luz, la proporción de clorofila *a/b* es diferente. En la mayoría de los cloroplastos de las plantas estudiadas se encuentran aproximadamente el doble de clorofila *a* que de clorofila *b* y casi 4 veces más que carotenoides (Nelson & Cox, 2015). En este trabajo, se encontró que la concentración de clorofila *a* fue 3.15 y 5.55 µg/mg de muestra seca (apéndice S) veces mayor que el de clorofila *b* y carotenoides, respectivamente. La función principal de los carotenoides es proteger a las clorofilas contra daños foto oxidativos y al ser pigmentos accesorios se encuentran en menor proporción evidenciado en los resultados (Taiz et al., 2021).

Como es sabido los pigmentos fotosintéticos absorben a determinadas longitudes de onda y su concentración depende de la cantidad y calidad de luz (Reed et al., 1993).

**Figura 10**

*Espectros de absorción (nm) de los pigmentos fotosintéticos obtenidos en los diferentes tratamientos de iluminación.*



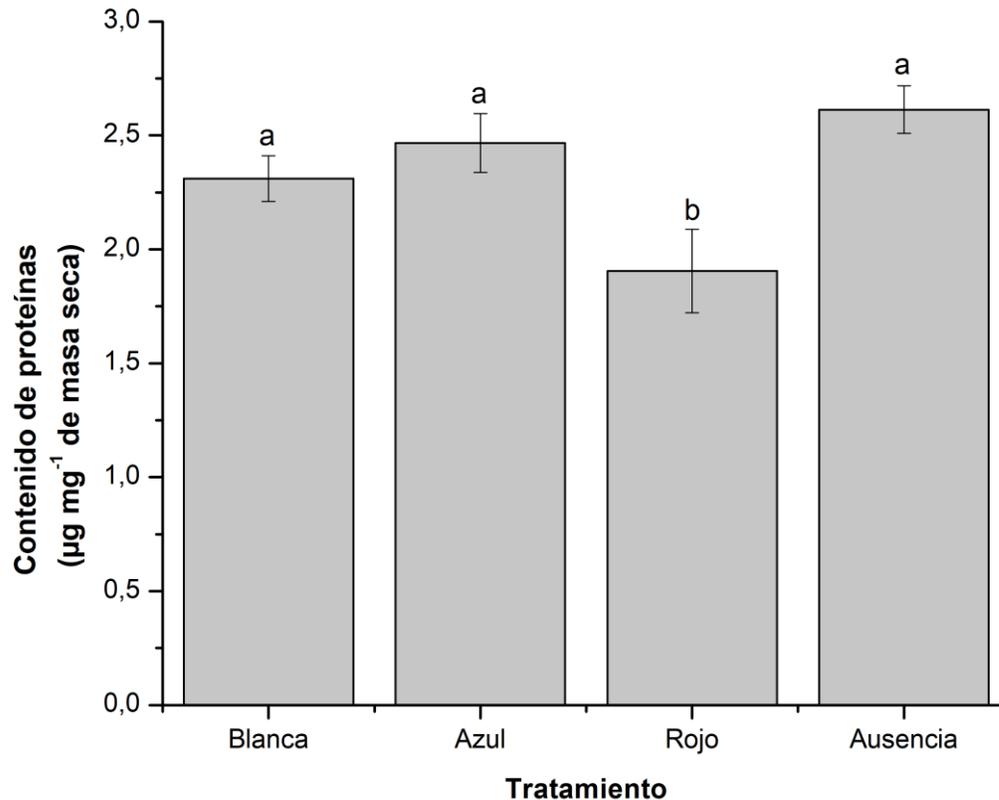
Los grupos cromóforos ubicados en el anillo de porfirina de la molécula de clorofila producen los máximos de absorción que se evidencian en el espectro de la Figura 10. Los cuales coinciden con los picos representativos de la clorofila *a* y *b* y carotenoides observados en la Figura 5.

**4.4. Cuantificación de proteínas**

Por otro lado, la cuantificación de proteínas se realizó a partir de la segunda fase obtenida en la extracción líquido - líquido descrita en la fase 3 de la metodología, en la que el buffer fosfato actuó como solvente.

**Figura 11**

Efecto de los diferentes tratamientos de iluminación sobre el contenido de proteínas ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) y las barras corresponden al error estándar.



Se evidenció una concentración de proteínas ligeramente mayor en el tratamiento en ausencia de luz ( $2.62 \pm 0.10 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca) comparado con los tratamientos de luz azul ( $2.46 \pm 0.13 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca) y luz blanca ( $2.31 \pm 0.10 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca) (Figura 11). Sin embargo, se observó una disminución significativa de proteínas cuando las plántulas fueron germinadas bajo luz roja ( $1.90 \pm 0.18 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca) ( $p < 0.05$ ) (Figura 11) (apéndice O).

Las proteínas son macromoléculas presentes en diversas rutas metabólicas de las plantas, pero su síntesis parece no depender directamente de la incidencia de luz, como se muestra en los resultados obtenidos. En ausencia de luz se observó la concentración más alta posiblemente porque

el criptocromo CRY2 se acumula en la oscuridad y se degrada a medida que se expone a la luz (Lin et al., 1998; Mockler et al., 2003), también a que las matrices del fotosistema II se forman en ausencia de luz (Heydarizadeh, 2015). Las plantas cuentan con diversas respuestas frente a condiciones de estrés por factores abióticos, estas activan el proceso de transcripción y expresión de diferentes genes que codifican proteínas, esto partiendo de almidón y lípidos como fuente de energía, almacenados en los leucoplastos o etioplastos; éstas pueden ser proteínas estructurales, encargadas de fortalecer la pared celular como lo son la callosa, lignina y proteínas ricas en hidroxiprolina (LABRA, 2012).

Los espectros de emisión de las lámparas LED (figura 6) arrojaron que la luz blanca y azul emiten con mayor intensidad, Kirchhoff (2014) menciona que el exceso de luz ataca a los centros de reacción de los fotosistemas II y provoca la destrucción de subunidades proteicas llamadas D1, por lo que el ciclo de reparación del fotosistema degrada la proteína dañada y la reemplaza por una sintetizada “*de novo*”, sugiriendo una explicación para la concentración en los tratamientos mencionados inicialmente. Por el contrario, la luz roja emitida por la lámpara LED al tener una menor intensidad, mostró una menor concentración de proteínas (Kirchhoff, 2014).

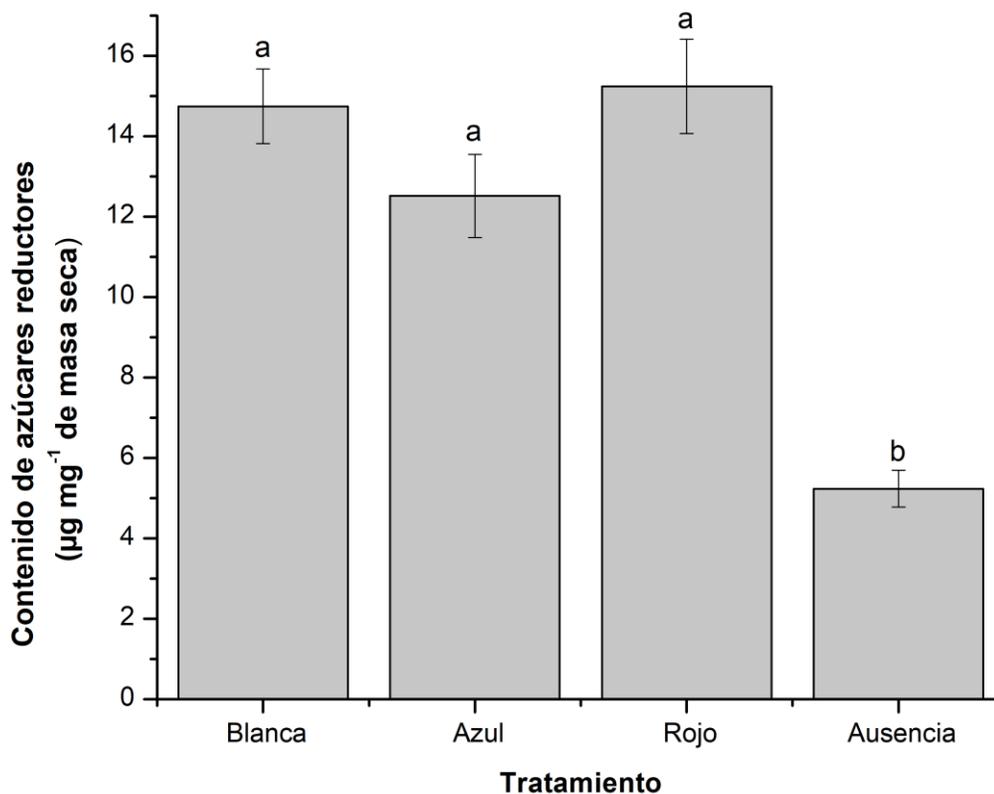
Para esta sección se utilizó un método que brindó información sobre la cantidad de proteínas presentes en las plántulas de maíz, sin embargo, al no desarrollar un proceso de purificación no se tuvo certeza de las diferentes proteínas contenidas en las muestras.

#### **4.5. Cuantificación de azúcares reductores**

La cuantificación de azúcares reductores se llevó a cabo, al igual que con las proteínas, a partir de la segunda fase obtenida en la extracción líquido - líquido descrita en la fase 3 de la metodología, en la que el buffer fosfato actuó como solvente.

**Figura 12**

Efecto de los diferentes tratamientos de iluminación sobre el contenido de azúcares reductores ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) y las barras corresponden al error estándar.



Se observó un contenido de azúcares reductores mayor en el tratamiento con luz roja ( $15.24 \pm 1.17 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca), respecto al contenido en el tratamiento de luz blanca ( $14.74 \pm 0.92 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca), luz azul ( $12.51 \pm 1.03 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca) y ausencia de la misma ( $5.23 \pm 0.45 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca) (figura 12). Entre los tratamientos de luz roja, blanca y azul no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ), sin embargo, el tratamiento en ausencia de iluminación sí las tuvo respecto a los demás tratamientos ( $p < 0.05$ ) (apéndice O).

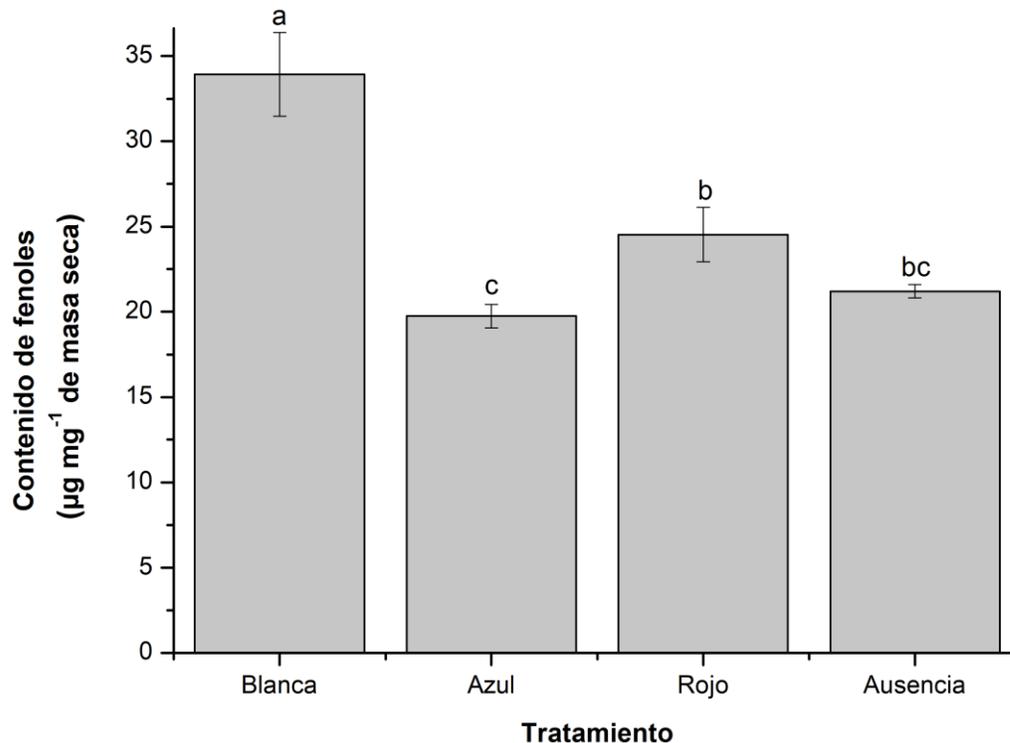
Para Alaoui Sossé (1994), cuando las plantas crecen en un ambiente no estresante el carbono fijado fotosintéticamente se redirige principalmente hacia la síntesis de carbohidratos, enfocándose en la producción de glucosa a partir de agua, dióxido de carbono y energía obtenida de la luz (Alaoui Sossé, 1994). Sin embargo, se han estudiado los niveles en plantas de carbohidratos como almidón, glucosa y sacarosa; los principales carbohidratos de almacenamiento, producción y translocación, respectivamente, como también de tipo estructural. En los resultados no se evidenció que las diferentes longitudes de onda incididas en las plántulas provocaran un cambio en la concentración de azúcares reductores en los tratamientos de luz blanca, azul y roja pues no hubo diferencias significativas entre las medias de concentración de azúcares reductores tal como lo describió Wang (2014) indicando que su concentración no es dependiente de los tipos de iluminación empleados en el estudio (Wang et al., 2014). Sin embargo, en ausencia de luz la carencia de azúcares reductores determinada en las hojas de las plántulas germinadas, puede no ser el resultado de un proceso fotosintético sino que su presencia derivaría de los carbohidratos de almacenamiento como el almidón, el cuál se encuentra acumulado en un 30-80 % en el grano de maíz (Tovar Benítez, 2008).

#### **4.5. Cuantificación de fenoles**

Los resultados obtenidos de la cuantificación de fenoles se encuentran contenidos en la figura a continuación.

**Figura 13**

Efecto de los diferentes tratamientos de iluminación sobre el contenido de fenoles ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) y las barras corresponden al error estándar.



Se determinó que, el contenido de fenoles totales con el tratamiento de luz blanca fue significativamente mayor ( $33.92 \pm 2.45 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca) con respecto al observado en el tratamiento de luz roja ( $24.52 \pm 1.60 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca), ausencia de luz ( $21.21 \pm 0.39 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca) y luz azul ( $19.75 \pm 0.70 \mu\text{g}/\text{mg}$  de muestra seca) ( $p < 0.05$ ) (Figura 13). Adicionalmente, se encontró que el tratamiento con luz azul reduce significativamente la síntesis de fenoles, en comparación con la luz roja ( $p < 0.05$ ) y, además, aunque en ausencia de luz hubo un efecto negativo sobre este tipo de metabolitos, fue ligeramente mayor al observado con la luz azul (apéndice O).

La concentración de fenoles en ausencia de luz fue similar a la obtenida con los tratamientos de luz roja y azul, posiblemente porque bajo condiciones de estrés la planta aumenta la síntesis de dichos compuestos con el fin de protegerse aumentando la rigidez de las paredes celulares (Fry, 1986). Esto se pudo evidenciar en que las hojas de ausencia de luz a través del tacto (datos no reportados).

La mayor concentración de fenoles durante la exposición de las plantas a la luz blanca está en acordancia con las observaciones reportados por Fan y colaboradores (2013), así como por Wink (1988), quienes argumentaron que la longitud de onda e intensidad de la lámpara podrían alterar la regulación del metabolismo central del carbono en la planta, dirigiendo la síntesis de metabolitos secundarios a partir de la fuente de carbohidratos disponibles, con la activación coordinada de los fotorreceptores involucrados en el metabolismo del carbono (Fan et al., 2013; Lin et al., 1998; Wink, 1988). Lo anterior, se pudo relacionar con el espectro de emisión de la lámpara de luz blanca (figura 6), en donde se observó que ésta emite con mayor intensidad.

La luz blanca tuvo un efecto significativo en la inducción de las biomoléculas analizadas y además en las características fenotípicas que se evaluaron como la longitud del tallo, la elongación de la hoja y su coloración. Tanto la concentración de pigmentos como la de proteínas, azúcares reductores y fenoles fue mayor en este tratamiento, aunque las condiciones de exposición utilizadas fueron las que más se asemejan a las condiciones naturales, generaron gran impacto evidenciado en la elevada síntesis de fenoles. La luz azul y roja no influyó drásticamente la composición de metabolitos analizados en las hojas, a pesar de la presencia de los fotorreceptores de estas longitudes de onda, criptocromos y fitocromos. Sin embargo, la elongación de las hojas bajo luz roja fue mayor por lo que se podría relacionar con un efecto positivo de dicha longitud de

onda sobre los fotorreceptores para favorecer su crecimiento. La ausencia de luz reflejó un impacto negativo en la biosíntesis de todas las moléculas analizadas, excepto en el contenido de proteínas.

En general, nuestros hallazgos muestran un efecto considerable sobre las biomoléculas analizadas en *Zea mays* durante la exposición a diferentes rangos de luz en el espectro visible, puesto que, se encontró una mayor inducción en la síntesis de compuestos fenólicos, seguida de azúcares reductores, clorofila *a*, proteínas, clorofila *b* y carotenoides sin importar la luz incida.

## 5. Conclusiones

A partir del estudio realizado se encontró que las plántulas germinadas bajo luz blanca fueron uniformemente verdes en su tallo y hojas presentaron una mayor biomasa, por el contrario en las germinadas bajo luz azul y roja se presentó una pigmentación rojiza en los tallos. En el tratamiento con luz roja se encontró que en las puntas de las hojas lanceoladas hubo una coloración levemente marrón y una mayor elongación longitudinal. Contrario a lo obtenido en las plántulas germinadas en ausencia de luz, puesto que presentaron menor cantidad de hojas, biomasa y ausencia de coloración en tallos y hojas.

Se observó una relación directa entre la irradiación electromagnética y las concentraciones de clorofila *a*, *b* y carotenoides en presencia de luz blanca, las hojas presentaron una mayor concentración de estos pigmentos y en ausencia se determinó un efecto negativo sobre la inducción de estas biomoléculas. En contraste, esto no sucedió con la concentración de proteínas y carbohidratos, ya que no se encontraron diferencias significativas. Para finalizar, la concentración de fenoles más alta se evidenció en el tratamiento con luz blanca y la menor en el tratamiento con luz azul, evidenciando así que la longitud de onda emitida por la lámpara blanca favorece significativamente su síntesis. De manera general, se concluyó que la calidad de luz tuvo un efecto sobre el crecimiento y desarrollo de la planta e influyó en la concentración de las biomoléculas de interés.

## **6. Perspectivas futuras**

A partir de los estudios y discusiones presentados en este trabajo de investigación, las perspectivas de trabajos futuros se pueden orientar a estudios de metabolómica o proteómica cuantificando los cambios de los metabolitos y sus correspondientes enzimas, para analizar más a fondo la influencia de la variación de la luz. También se podría estudiar la interacción maíz-hervíboro con la finalidad de determinar la importancia de las diferentes longitudes de onda en la defensa vegetal. Se podrían dirigir los estudios hacia otros tejidos de las plantas como los tallos y las raíces. Podría considerarse también la posibilidad de replicar este trabajo en campo y de esta manera analizar la diferencia entre los metabolitos en cultivos hidropónicos o en campo.

### Referencias bibliográficas

Ahmad, M., & Cashmore, A. R. (1993). HY4 gene of *A. thaliana* encodes a protein with characteristics of a blue-light photoreceptor. *Nature*, 366(6451), 162-166.

Alaoui Sossé, B. (1994). Rhythmic growth and carbon allocation in *Quercus robur*. 1. Starch and sucrose. *Plant Physiol. Biochem.*, 32, 331-339.

Alcantara-Cortes, J. S., Acero Godoy, J., Alcántara Cortés, J. D., & Sánchez Mora, R. M. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *Nova*, 17(32), 109-129.

Alquezar, B. (2008). *Caracterización bioquímica y molecular de la carotenogénesis en frutos cítricos* [Http://purl.org/dc/dcmitype/Text, Universitat de València]. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=80469>

AU - Salem, M., AU - Bernach, M., AU - Bajdzienko, K., & AU - Giavalisco, P. (2017). A Simple Fractionated Extraction Method for the Comprehensive Analysis of Metabolites, Lipids, and Proteins from a Single Sample. *JoVE*, 124, e55802. <https://doi.org/10.3791/55802>

Avella, D. M. G., García, C. A. O., & Cisneros, A. M. (2008). Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. *Memorias del Simposio de Metrología. Universidad Autónoma de Querétaro. Centro Nacional de Querétaro*.

Azcón-Bieto, J., & Talón, M. (2008). *Fundamentos de fisiología vegetal*. McGraw-Hill Interamericana. <https://books.google.com.co/books?id=Ug0vPwAACAAJ>

Batschauer, A. (1998). Photoreceptors of higher plants. *Planta*, 206, 479-492. <https://doi.org/10.1007/s004250050425>

Betrán, F. J., Ribaut, J. M., Beck, D., & De León, D. G. (2003). Genetic diversity, specific combining ability, and heterosis in tropical maize under stress and nonstress environments. *Crop*

*Science*, 43(3), 797-806.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>

Brady, P. N., & Macnaughtan, M. A. (2015). Evaluation of colorimetric assays for analyzing reductively methylated proteins: Biases and mechanistic insights. *Analytical Biochemistry*, 491, 43-51. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2015.08.027>

Carrillo, L. (s. f.). *Fotobiología vegetal*. 31.

Colasanti, J., & Coneva, V. (2009). Mechanisms of floral induction in grasses: Something borrowed, something new. *Plant Physiology*, 149(1), 56-62.

Cooper, G. M., Hausman, R. E., & Wright, N. (2010). *La célula*. Marbán.

Cunningham, F. X., & Gantt, E. (1998). GENES AND ENZYMES OF CAROTENOID BIOSYNTHESIS IN PLANTS. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49(1), 557-583. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.49.1.557>

Díaz, C., & Gelves, A. (2021). *Estandarización del método de Lugol-carbohidrato para la evaluación de la actividad enzimática de  $\alpha$ -amilasa de *Zea mays* L.* [Trabajo de Grado para Optar el Título de Química]. Universidad Industrial de Santander.

Fan, X.-X., Xu, Z.-G., Liu, X.-Y., Tang, C.-M., Wang, L.-W., & Han, X. (2013). Effects of light intensity on the growth and leaf development of young tomato plants grown under a combination of red and blue light. *Scientia horticultrae*, 153, 50-55.

Fry, S. C. (1986). Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. *Annual review of plant physiology*, 37(1), 165-186.

González-Torres, L., Téllez-Valencia, A., Sampedro, J. G., & Nájera, H. (2007). Las

proteínas en la nutrición. *Revista salud pública y nutrición*, 8(2), 1-7.

Govaerts, B., Vega, D., Chávez, X., Narro, L., San Vicente, F. M., Palacios, N., Pérez, M., González, G., Ortega, P., Carvajal, A., Arcos, A. L., Bolaños, J., Romero, N., Bolaños, J., Vanegas, Y. F., Echeverría, R., Jarvis, A., Jiménez, D., Ramírez-Villegas, J., ... Tapasco, J. (2019). *Maíz para Colombia Visión 2030*. CIMMYT. <https://repository.cimmyt.org/handle/10883/20218>

Guacho A., Edison F. (2014). *CARACTERIZACIÓN AGRO-MORFOLOGICA DEL MAÍZ (Zea mays L.) DE LA LOCALIDAD SAN JOSÉ DE CHAZO*. [Pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <https://core.ac.uk/download/pdf/234574936.pdf>

Heydarizadeh, P. (2015). *Regulation of secondary compounds synthesis by photosynthetic organisms under stress* [PhD Thesis].

Kirchhoff, H. (2014). Structural changes of the thylakoid membrane network induced by high light stress in plant chloroplasts. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1640), 20130225.

Koornneef, M., Hanhart, C. J., & Van der Veen, J. H. (1991). A genetic and physiological analysis of late flowering mutants in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular and General Genetics MGG*, 229(1), 57-66.

Kruger, N. J. (2009). The Bradford method for protein quantitation. *The protein protocols handbook*, 17-24.

LABRA, A. B. (2012). *Proteínas involucradas en los mecanismos de defensa de plantas*.

Leivar, P., & Monte, E. (2014). PIFs: Systems integrators in plant development. *The Plant Cell*, 26(1), 56-78. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.120857>

Lichtenthaler, H. K., & Wellburn, A. R. (1983). *Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents*. Portland Press Ltd.

Lin, C., & Todo, T. (2005). The cryptochromes. *Genome Biology*, 6(5), 220.  
<https://doi.org/10.1186/gb-2005-6-5-220>

Lin, C., Yang, H., Guo, H., Mockler, T., Chen, J., & Cashmore, A. R. (1998). Enhancement of blue-light sensitivity of Arabidopsis seedlings by a blue light receptor cryptochrome 2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(5), 2686-2690.

Luque Vilca, O. M., Parillo Gutiérrez, I., Sacachipana Huancollo, R., Yucra Mamani, Y. E., Mamani Adco, Y., & Baylor Hidalgo, L. R. (2019). Influencia del proceso de germinación en el contenido de proteínas y aminoácidos de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) variedad Pasankalla Roja. *Universidad Nacional de Juliaca*.  
<http://repositorio.unaj.edu.pe:8080/handle/UNAJ/67>

Mandre, M., Tullus, H., & Tamm, Ü. (1998). The partitioning of carbohydrates and the biomass of leaves in *Populus tremula* L. canopy. *Trees*, 12(3), 160-166.  
<https://doi.org/10.1007/PL00009706>

Marsden, W. L., Gray, P. P., Nippard, G. J., & Quinlan, M. R. (1982). Evaluation of the DNS method for analysing lignocellulosic hydrolysates. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 32(7-12), 1016-1022.

Martínez-García, J. F. (2002). *Fitocromos y desarrollo vegetal*. 11.

Melo, V., & Cuamatzi, O. (2020). *Bioquímica de los procesos metabólicos*. Reverte.

Mitch, S. (2015). *Bis2A 06.3 Photophosphorylation: The light reactions in photosynthesis - OpenStax CNX*. <https://cnx.org/contents/c8fa5bf4-1af7-4591-8d76-711d0c1f05f9@2/Bis2A-06-3-Photophosphorylation-The-light-reactions-in-photosynthesis>

Mockler, T., Yang, H., Yu, X., Parikh, D., Cheng, Y., Dolan, S., & Lin, C. (2003). Regulation of photoperiodic flowering by Arabidopsis photoreceptors. *Proceedings of the*

*National Academy of Sciences*, 100(4), 2140-2145.

Montañez, L. J. B. (2020). Cuantificación de azúcares reductores del sustrato en residuos de piña con el método del ácido 3, 5-dinitrosalicílico. *Revista de Investigación*, 13(1), 57-66.

Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2015). *Lehninger: Principios de bioquímica*.

Núñez, R. Á., Pérez, B. R., Motzezak, R. H., & Chirinos, M. (2012). Contenido de azúcares totales, reductores y no reductores en Agave cocui Trelease. *Multiciencias*, 12(2), 129-135.

OuYang, F., Mao, J.-F., Wang, J., Zhang, S., & Li, Y. (2015). Transcriptome analysis reveals that red and blue light regulate growth and phytohormone metabolism in Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.]. *PLoS One*, 10(8), e0127896.

Peleg, Z., & Blumwald, E. (2011). Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. *Curr Opin Plant Biol*, 14, 290-295.

Pérez-Urria Carril, E. (2009). Fisiología Vegetal: Aspectos básicos. *REDUCA*, 2(3), 1-47.

Pérez-Urria Carril, E., & Ávalos García, A. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca*, 2(3), 119-145.

*Pharmacology—1st Edition*. (s. f.). Recuperado 9 de febrero de 2022, de <https://www.elsevier.com/books/pharmacology/9780443068980>

Piperno, D. R., Ranere, A. J., Holst, I., Iriarte, J., & Dickau, R. (2009). Starch grain and phytolith evidence for early ninth millennium BP maize from the Central Balsas River Valley, Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(13), 5019-5024.

Pizarro, L., & Stange, C. (2009). Light-dependent regulation of carotenoid biosynthesis in plants. *Ciencia e investigación agraria*, 36(2), 143-162. <https://doi.org/10.4067/S0718-16202009000200001>

Rausenberger, J., Tscheuschler, A., Nordmeier, W., Wüst, F., Timmer, J., Schäfer, E.,

Fleck, C., & Hiltbrunner, A. (2011). Photoconversion and nuclear trafficking cycles determine phytochrome A's response profile to far-red light. *Cell*, 146(5), 813-825. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.07.023>

Reed, J. W., Nagpal, P., Poole, D. S., Furuya, M., & Chory, J. (1993). Mutations in the gene for the red/far-red light receptor phytochrome B alter cell elongation and physiological responses throughout Arabidopsis development. *The Plant Cell*, 5(2), 147-157. <https://doi.org/10.1105/tpc.5.2.147>

Reol, E. M. (2003). Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz para la fotosíntesis. *Ecosistemas*, 12(1), Article 1. <https://doi.org/10.7818/ECOS.250>

Sobiesiak, M. (2017). *Chemical Structure of Phenols and Its Consequence for Sorption Processes*. <https://doi.org/10.5772/66537>

Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. (2021). *Fundamentos de Fisiología Vegetal—6.ed.* Artmed Editora.

Tian, Y., Wang, H., Sun, P., Fan, Y., Qiao, M., Zhang, L., & Zhang, Z. (2019). Response of leaf color and the expression of photoreceptor genes of *Camellia sinensis* cv. Huangjinya to different light quality conditions. *Scientia Horticulturae*, 251, 225-232. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.03.032>

Tovar Benítez, T. (2008). *Caracterización morfológica y térmica del almidón de maíz (Zea mays L) obtenido por diferentes métodos de aislamiento*.

Tripathi, S., Hoang, Q. T. N., Han, Y.-J., & Kim, J.-I. (2019). Regulation of Photomorphogenic Development by Plant Phytochromes. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(24), E6165. <https://doi.org/10.3390/ijms20246165>

Van Heerwaarden, J., Doebley, J., Briggs, W. H., Glaubitz, J. C., Goodman, M. M.,

Gonzalez, J. de J. S., & Ross-Ibarra, J. (2011). Genetic signals of origin, spread, and introgression in a large sample of maize landraces. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(3), 1088-1092.

Wang, X., Wang, Q., Nguyen, P., & Lin, C. (2014). Cryptochrome-mediated light responses in plants. *The Enzymes*, 35, 167-189. PubMed. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801922-1.00007-5>

Weller, J. L., Foo, E. M., Hecht, V., Ridge, S., Vander Schoor, J. K., & Reid, J. B. (2015). Ethylene signaling influences light-regulated development in pea. *Plant Physiology*, 169(1), 115-124.

Werlinger, C., V, K. A., & Romo, H. (2004). *Biología marina y oceanografía: Conceptos y procesos: Vol. v.2*. Gobierno de Chile, Consejo Nacional del Libro y la Lectura.

Wink, M. (1988). Plant breeding: Importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Theoretical and applied genetics*, 75(2), 225-233.

Wu, L., Tian, L., Wang, S., Zhang, J., Liu, P., Tian, Z., Zhang, H., Liu, H., & Chen, Y. (2016). Comparative Proteomic Analysis of the Response of Maize (*Zea mays* L.) Leaves to Long Photoperiod Condition. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00752>

Yanovsky, M. J. (1999). *Control del crecimiento y desarrollo de las plantas por la luz: Funciones fotoperceptivas y mecanismos de acción del fitocromo A*. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

Yue, C., Wang, Z., & Yang, P. (2021). Review: The effect of light on the key pigment compounds of photosensitive etiolated tea plant. *Botanical Studies*, 62, 21. <https://doi.org/10.1186/s40529-021-00329-2>

Zhong, S., Shi, H., Xue, C., Wang, L., Xi, Y., Li, J., Quail, P. H., Deng, X. W., & Guo, H.

EFECTO DE LA LUZ SOBRE LA SÍNTESIS DE BIOMOLÉCULAS EN MAÍZ *Zea mays* L.62

(2012). A molecular framework of light-controlled phytohormone action in Arabidopsis. *Current Biology: CB*, 22(16), 1530-1535. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.06.039>

## Apéndices

### Apéndice A

*Disposición de las semillas en el algodón.*



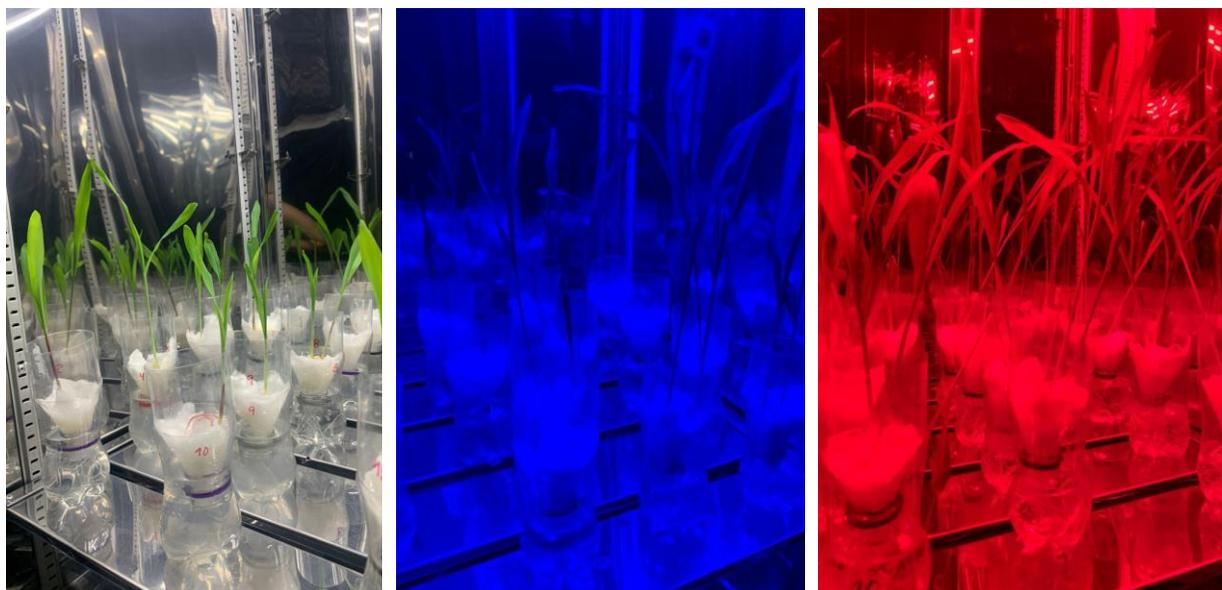
### Apéndice B

*Irradiancias en microvatios por centímetro cuadrado de cada lámpara utilizada en el trabajo (luz blanca, azul y roja).*

Lámpara	Irradiancia ( $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ )
Blanca	36.31
Azul	31.07
Roja	20.68

### Apéndice C

*Montajes bajo los diferentes tratamientos de luz blanca, azul y roja, respectivamente.*



### Apéndice D

*Absorbancias de las muestras bajo los diferentes tratamientos de luz.*

**D1.** *Absorbancias de los metabolitos de las muestras bajo tratamiento con luz blanca.*

Muestra blanca	Pigmentos (662, 644 y 470 nm)			Proteínas (595 nm)	Carbohidratos (540 nm)	Fenoles (765 nm)
M3	1,684	0,58	0,861	1,18	0,638	0,766
M8	1,865	0,704	1,051	1,286	0,507	1,169
M11	1,521	0,557	0,82	1,346	0,824	1,026
M13	1,266	0,468	0,672	1,343	0,605	1,168
M15	1,669	0,605	0,871	1,314	0,6	1,339
M27	1,894	0,691	1,003	1,306	0,632	1,173
M29	1,517	0,547	0,806	1,196	0,659	1,037

**D2.** *Absorbancias de los metabolitos de las muestras bajo tratamiento con luz azul.*

Muestra azul	Pigmentos (662, 644 y 470 nm)			Proteínas (595 nm)	Carbohidratos (540 nm)	Fenoles (765 nm)
M1	0,965	0,38	0,601	1,319	0,445	0,67
M2	1,114	0,421	0,669	1,338	0,574	0,756
M6	1,005	0,374	0,618	1,423	0,679	0,699

EFFECTO DE LA LUZ SOBRE LA SÍNTESIS DE BIOMOLÉCULAS EN MAÍZ *Zea mays* L.65

<b>M8</b>	1,003	0,372	0,608	1,148	0,685	0,674
<b>M20</b>	1,326	0,465	0,733	1,352	0,566	0,743
<b>M29</b>	0,995	0,344	0,564	1,295	0,494	0,627
<b>M30</b>	1,005	0,351	0,608	1,375	0,414	0,764

**D3.** Absorbancias de los metabolitos de las muestras bajo tratamiento con luz roja.

<b>Muestra roja</b>	<b>Pigmentos (662, 644 y 470 nm)</b>			<b>Proteínas (595 nm)</b>	<b>Carbohidratos (540 nm)</b>	<b>Fenoles (765 nm)</b>
<b>M13</b>	0,788	0,342	0,579	1,138	0,841	0,79
<b>M17</b>	0,864	0,351	0,577	1,331	0,62	1,097
<b>M18</b>	0,826	0,33	0,587	1,228	0,688	0,78
<b>M19</b>	1,001	0,396	0,654	1,314	0,472	0,798
<b>M23</b>	0,736	0,289	0,469	1,15	0,641	0,788
<b>M25</b>	0,721	0,294	0,46	1,11	0,576	0,838
<b>M29</b>	0,576	0,241	0,383	0,979	0,762	0,766

**D4.** Absorbancias de los metabolitos de las muestras bajo tratamiento en ausencia de luz.

<b>Muestra ausencia</b>	<b>Pigmentos (662, 644 y 470 nm)</b>			<b>Proteínas (595 nm)</b>	<b>Carbohidratos (540 nm)</b>	<b>Fenoles (765 nm)</b>
<b>M2</b>	0,053	0,05	0,07	0,338	0,241	0,728
<b>M5</b>	0,047	0,045	0,061	0,431	0,245	0,702
<b>M9</b>	0,046	0,044	0,059	0,387	0,228	0,749
<b>M17</b>	0,045	0,043	0,056	0,431	0,266	0,739
<b>M22</b>	0,046	0,046	0,056	0,297	0,359	0,797
<b>M23</b>	0,045	0,042	0,059	0,242	0,297	0,75
<b>M27</b>	0,049	0,047	0,062	0,384	0,232	0,751

EFFECTO DE LA LUZ SOBRE LA SÍNTESIS DE BIOMOLÉCULAS EN MAÍZ *Zea mays* L.66

Apéndice E

Concentraciones finales de los metabolitos estudiados.

Metabolito						
	Concentración Ca (µg/mg de muestra seca)	Concentración Cb (µg/mg de muestra seca)	Concentración C (µg/mg de muestra seca)	Proteínas (µg/mg de muestra seca)	Carbohidrato s (µg/mg de muestra seca)	Fenoles (µg/mg de muestra seca)
VISIBLE	6,59	1,68	1,04	1,91	14,75	21,96
	7,28	2,27	1,23	2,34	11,38	36,53
	5,94	1,74	0,96	2,56	19,51	31,36
	4,94	1,47	0,77	2,55	13,9	36,49
	6,52	1,86	1,02	2,44	13,77	42,67
	7,40	2,14	1,17	2,40	14,59	36,67
	5,93	1,67	0,95	1,97	15,28	31,76
AZUL	3,76	1,28	0,71	2,46	9,79	18,49
	4,35	1,36	0,81	2,53	13,10	21,60
	3,92	1,18	0,76	2,87	15,79	19,54
	3,92	1,17	0,74	1,78	15,95	18,64
	5,18	1,38	0,90	2,58	12,9	21,13
	3,89	1,00	0,71	2,36	11,05	16,94
	3,93	1,04	0,78	2,68	9,00	21,89
ROJA	3,06	1,25	0,68	1,74	19,95	22,83
	3,36	1,21	0,68	2,509	14,28	33,93
	3,22	1,12	0,77	2,10	16,03	22,47
	3,90	1,33	0,78	2,44	10,49	23,12
	2,87	0,97	0,56	1,79	14,82	22,76
	2,81	1,02	0,53	1,64	13,16	24,57
	2,24	0,85	0,44	1,12	17,92	21,96
AUSCENCIA	0,19	0,26	0,06	2,53	4,56	20,59
	0,17	0,24	0,05	2,89	4,67	19,65
	0,17	0,23	0,045	2,72	4,23	21,35
	0,17	0,23	0,041	2,89	5,21	20,99
	0,17	0,24	0,04	2,37	7,59	23,08
	0,17	0,22	0,05	2,15	6,00	21,38
	0,18	0,25	0,05	2,71	4,33	21,42

**Apéndice F**

*Patrones para la preparación de la curva de calibración del método Bradford para medir el contenido de proteínas.*

<b>Patrón</b>	<b>Solución BSA 0.1 mg/mL (μL)</b>	<b>Solución buffer fosfato 0.1M pH 7 (μL)</b>	<b>Reactivo Bradford (μL)</b>
Blanco	0	250	2500
1	10	240	2500
2	25	225	2500
3	50	200	2500
4	100	150	2500
5	150	100	2500
6	200	50	2500

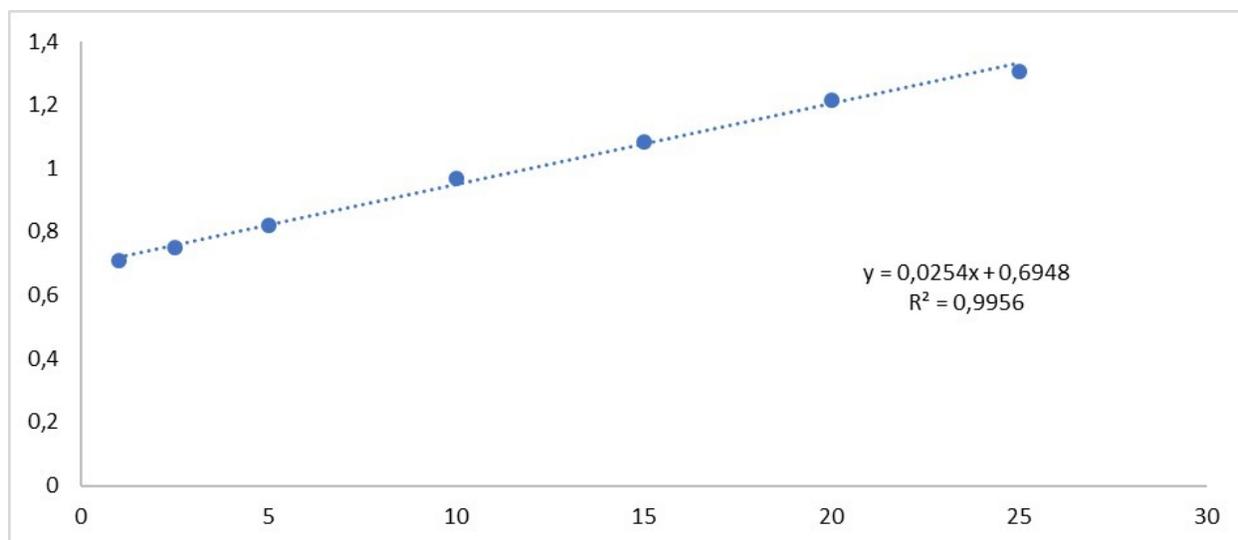
**Apéndice G**

Absorbancias de los patrones obtenidas para la curva de calibración de Bradford.

<b>Concentración (μg/mL)</b>	<b>Absorbancia (595 nm)</b>
1	0,709
2,5	0,749
5	0,822
10	0,97
15	1,085
20	1,216
25	1,307
$y = 0,0254 x + 0,6948$	
$R^2 = 0,9956$	

## Apéndice H

*Curva de calibración de Bradford.*



## Apéndice I

*Patrones para la preparación de la curva de calibración del método DNS para medir el contenido de azúcares reductores.*

Patrón	Volumen de Glucosa (μL)	Volumen de Agua (μL)	Reactivo de DNS (μL)
Blanco	-	250	250
1	10	240	250
2	25	225	250
3	50	200	250
4	100	150	250
5	150	100	250
6	200	50	250
7	250	-	250

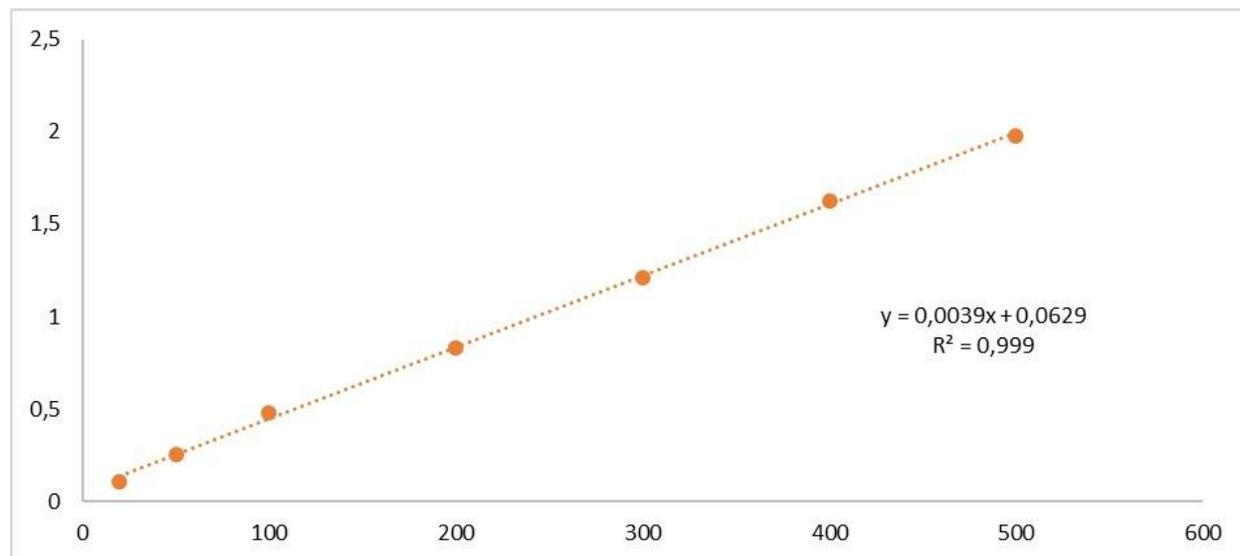
## Apéndice J

*Absorbancias de los patrones obtenidas para la curva de calibración de DNS.*

Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbancia (540 nm)
20	0,109
50	0,258
100	0,484
200	0,832
300	1,214
400	1,628
500	1,975
$y = 0,0039 x + 0,0629$	
$R^2 = 0,999$	

## Apéndice K

*Curva de calibración de DNS.*



**Apéndice L**

*Patrones para la preparación de la curva de calibración del método Folin-Ciocalteu para medir el contenido de fenoles.*

<b>Patrón</b>	<b>Solución Ácido Gálico (µL)</b>	<b>Reactivo de Folin (µL)</b>	<b>Solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (µL)</b>
Blanco	225 de agua	645	1290
1	225	645	1290
2	225	645	1290
3	225	645	1290
4	225	645	1290
5	225	645	1290
6	225	645	1290

**Apéndice M**

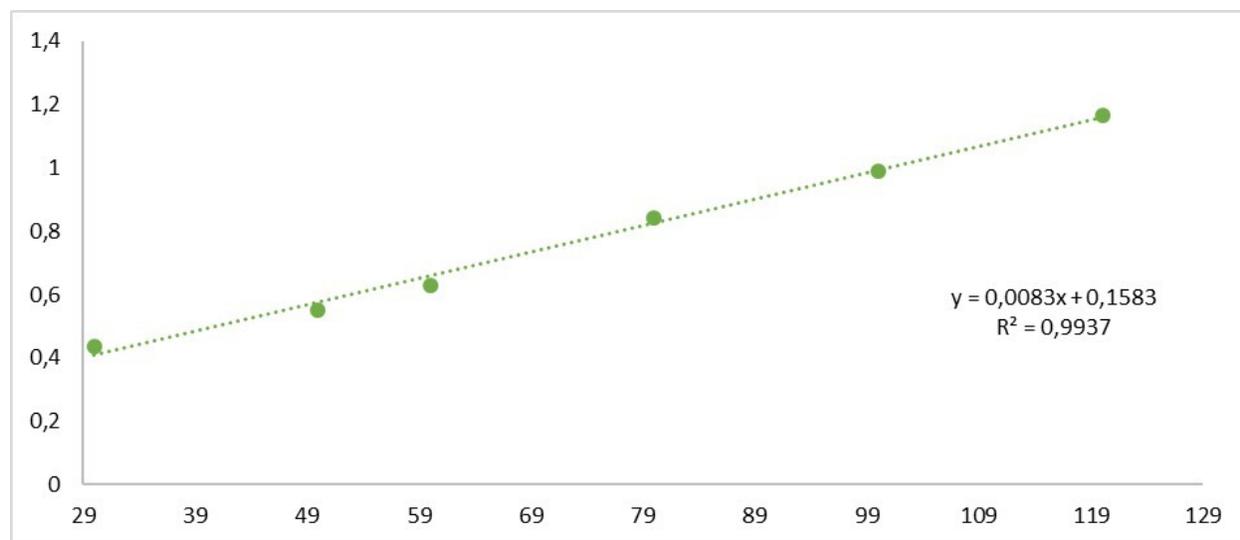
*Absorbancias de los patrones obtenidas para la curva de calibración de Folin-Ciocalteu.*

<b>Concentración (µg/mL)</b>	<b>Absorbancia (765 nm)</b>
30	0,438
50	0,553
60	0,631
80	0,841
100	0,989
120	1,167
$y = 0,0083 x + 0,1583$	
$R^2 = 0,9937$	

# EFFECTO DE LA LUZ SOBRE LA SÍNTESIS DE BIOMOLÉCULAS EN MAÍZ *Zea mays* L.71

## Apéndice N

Curva de calibración de Folin-Ciocalteu.



## Apéndice O

Análisis estadístico.

**O1.** Análisis estadístico de los datos analizados para clorofila a. ANOVA para clorofila a.

Fuente	Suma de cuadrados	Gi	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	104,586	3	348,619	1138,61	0,000
Intra grupos	0,0734832	24	0,0030618		
Total (Corr.)	105,321	27			

Verificación de varianza y de homogeneidad datos. \*Indica una diferencia significativa.

	Prueba	Valor-P	Prueba	Comparación	
Levene's	1,37277	0,275	Homogeneidad de datos	Ausencia / Azul	*
				Ausencia / Rojo	*
				Ausencia / Visible	*
				Azul / Rojo	*
				Azul / Visible	*
				Rojo / Visible	*

EFFECTO DE LA LUZ SOBRE LA SÍNTESIS DE BIOMOLÉCULAS EN MAÍZ *Zea mays* L.72

*Prueba de Kruskal-Wallis para clorofila a.*

Tratamiento	Tamaño Muestra	Rango Promedio	Estadístico	Valor -P
Ausencia	7	4	24,73	0,00001
Azul	7	17.85		
Rojo	7	11.28		
Visible	7	24.85		

**O2. Análisis estadístico clorofila b.**

*ANOVA para clorofila b.*

Fuente	Suma de cuadrados	Gi	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3,15652	3	1,05217	335,26	0,000
Intra grupos	0,0753202	24	0,00313834		
Total (Corr.)	3,23184	27			

*Verificación de varianza y de homogeneidad datos. \*Indica una diferencia significativa.*

	Prueba	Valor-P	Prueba		
Levene's	2,09617	0,1273	Homogeneidad de datos	Ausencia / Azul	*
				Ausencia / Rojo	*
				Ausencia / Visible	*
				Azul / Rojo	
				Azul / Visible	*
				Rojo / Visible	*

*Prueba de sesgo y curtosis estandarizados para clorofila b.*

Prueba		Prueba	
Sesgo estandarizado	-1,9968	Curtosis estandarizada	-0,801311

**O3. Análisis estadístico carotenoides.**

Fuente	Suma de cuadrados	Gi	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	8,22312	3	2,74104	652,61	0,000
Intra grupos	0,100803	24	0,00420011		

Verificación de varianza y de homogeneidad datos. \*Indica una diferencia significativa.

	Prueba	Valor-P	Prueba	Comparación	
Levene's	2,0125	0.1394	Homogeneidad de datos	Ausencia / Azul	*
				Ausencia / Rojo	*
				Ausencia / Visible	*
				Azul / Rojo	*
				Azul / Visible	*
				Rojo / Visible	*

Prueba de Kruskal-Wallis para carotenoides.

Tratamiento	Tamaño Muestra	Rango Promedio	Estadístico	Valor -P
Ausencia	7	4	23,0647	0,000039
Azul	7	17,4286		
Rojo	7	12,1429		
Visible	7	24,4286		

**O4. Análisis estadístico proteínas.**

ANOVA para proteínas.

Fuente	Suma de cuadrados	Gi	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1,96153	3	0,653844	5,24	0,0063
Intra grupos	2,99415	24	0,124756		

EFFECTO DE LA LUZ SOBRE LA SÍNTESIS DE BIOMOLÉCULAS EN MAÍZ *Zea mays* L.74

<b>Total (Corr.)</b>	4,95568	27
----------------------	---------	----

Verificación de varianza y de homogeneidad datos. \*Indica una diferencia significativa.

	<b>Prueba</b>	<b>Valor-P</b>	<b>Prueba</b>	<b>Comparación</b>	
<b>Levene's</b>	1,1087	0,365	Homogeneidad de datos	Ausencia / Azul	
				Ausencia / Rojo	*
				Ausencia / Visible	
				Azul / Rojo	*
				Azul / Visible	
				Rojo / Visible	*

Prueba de Kruskal-Wallis para proteínas.

<b>Tratamiento</b>	<b>Tamaño Muestra</b>	<b>Rango Promedio</b>	<b>Estadístico</b>	<b>Valor -P</b>
<b>Ausencia</b>	7	20,5	10,197	0,0169633
<b>Azul</b>	7	17,2143		
<b>Rojo</b>	7	7,32429		
<b>Visible</b>	7	13,0714		

**O5. Análisis estadístico carbohidratos.**

ANOVA para carbohidratos.

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Gi</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
<b>Entre grupos</b>	448,584	3	149,528	24,3	0,000
<b>Intra grupos</b>	147,692	24	6,15382		
<b>Total (Corr.)</b>	596,275	27			

Verificación de varianza y de homogeneidad datos. \*Indica una diferencia significativa.

	<b>Prueba</b>	<b>Valor-P</b>	<b>Prueba</b>	<b>Comparación</b>	
<b>Levene's</b>	1,3885	0,2704	<b>Homogeneidad de datos</b>	Ausencia / Azul	*
				Ausencia / Rojo	*
				Ausencia / Visible	*

EFFECTO DE LA LUZ SOBRE LA SÍNTESIS DE BIOMOLÉCULAS EN MAÍZ *Zea mays* L.75

	Azul / Rojo
	Azul / Visible
	Rojo / Visible
<i>Prueba de sesgo y curtosis estandarizados para carbohidratos.</i>	

Prueba		Prueba	
<b>Sesgo estandarizado</b>	-0,677395	<b>Curtosis estandarizada</b>	-0,952678

**O6. Análisis estadístico fenoles.**

*ANOVA para fenoles.*

Fuente	Suma de cuadrados	Gi	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
<b>Entre grupos</b>	0,214997	3	0,0716657	19,24	0,000
<b>Intra grupos</b>	0,0893875	24	0,00372448		
<b>Total (Corr.)</b>	0,304385	27			

*Verificación de varianza y de homogeneidad datos. \*Indica una diferencia significativa.*

	Prueba	Valor-P	Prueba	Comparación	
<b>Levene's</b>	2,0406	0,135	<b>Homogeneidad de datos</b>	Ausencia / Azul	
				Ausencia / Rojo	
				Ausencia / Visible	*
				Azul / Rojo	*
				Azul / Visible	*
				Rojo / Visible	*

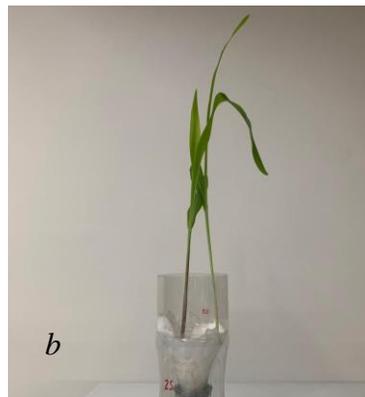
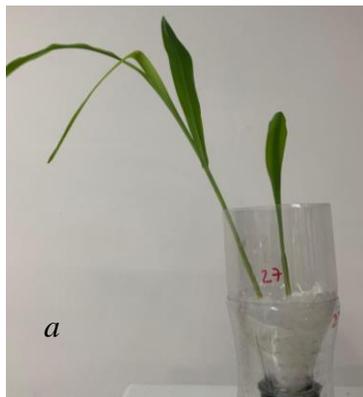
# EFECTO DE LA LUZ SOBRE LA SÍNTESIS DE BIOMOLÉCULAS EN MAÍZ *Zea mays* L.76

*Prueba de Kruskal-Wallis para fenoles.*

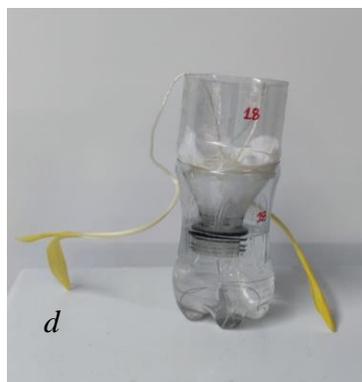
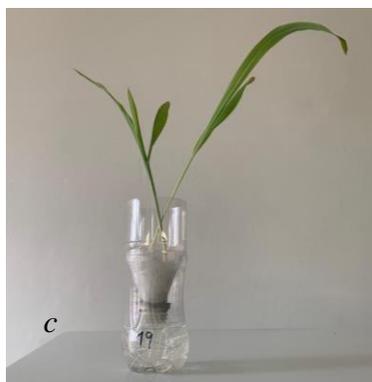
Tratamiento	Tamaño Muestra	Rango Promedio	Estadístico	Valor -P
Ausencia	7	9,57143	20,1663	0,0001567
Azul	7	6,14286		
Rojo	7	18,6429		
Visible	7	23,6429		

## Apéndice P

*Plántulas obtenidas bajo tratamientos de luz blanca (a), azul (b), roja (c) y ausencia (d).*



# EFECTO DE LA LUZ SOBRE LA SÍNTESIS DE BIOMOLÉCULAS EN MAÍZ *Zea mays* L.77



## Apéndice Q

Registro de longitud de tallos, hojas y pesos de las hojas analizadas.

	Tallo 1 (cm)	Tallo 2 (cm)	Prom Tallo (cm)	Hoja 1 (cm)	Hoja 1 (cm)	Prom Hoja 1 (cm)	Hoja 2 (cm)	Hoja 2 (cm)	Prom Hoja 2 (cm)	Hoja 3 (cm)	Hoja 3 (cm)	Prom Hoja 3 (cm)	Peso (g)
VISBLE	8	9,2	8,6	9,1	7,4	8,25	19	16,7	17,85	0	0	0	921
	8	7,5	7,75	9	7,8	8,4	16	20,3	18,15	0	0	0	766
	5,7	8,3	7	5,1	7,1	6,1	15	16,5	15,75	0	20,2	10,1	1289
	10,8	0	5,4	9,5	0	4,75	17,5	0	8,75	18,5	0	9,25	858
	7,6	8	7,8	7,7	8,5	8,1	15,2	12	13,6	0	0	0	1072
	3	8,8	5,9	6,6	8,5	7,55	0	23,3	11,65	0	0	0	942
	7,1	0	3,55	7,9	0	3,95	18,9	0	9,45	0	0	0	673
AZUL	10	9	9,5	9,1	8,2	8,65	17,3	18,3	17,8	0	0	0	892
	11,2	10,1	10,65	7,3	8	7,65	14,9	17	15,95	0	23,8	11,9	987
	7,8	9	8,4	8,8	6,5	7,65	6	17	11,5	0	0	0	649
	10	8,5	9,25	9,8	6,6	8,2	18,2	17,1	17,65	0	0	0	798
	8,4	3,5	5,95	6,6	6,5	6,55	21	1,8	11,4	0	0	0	748
	10,5	9,2	9,85	5,7	6,3	6	7,3	18	12,65	0	5,5	2,75	834
	7	8,5	7,75	3,7	8,7	6,2	14,4	15,8	15,1	0	0	0	709
ROJO	6,1	9,5	7,8	8,9	6,8	7,85	19	13,7	16,35	23,2	0	11,6	657
	8,2	9,5	8,85	7	7,6	7,3	11	18,2	14,6	21	22,7	21,85	843
	10,9	11	10,95	8,4	13,5	10,95	11	12,7	11,85	18,5	22,8	20,65	634
	8,5	11,4	9,95	7,6	11	9,3	7,5	19,3	13,4	13,2	0	60,6	862

## EFFECTO DE LA LUZ SOBRE LA SÍNTESIS DE BIOMOLÉCULAS EN MAÍZ *Zea mays* L.78

	11,7	11,5	11,6	9,4	9,4	9,4	15	21,3	18,15	21,8	0	10,9	712
	11,4	12	11,7	9,4	10,7	10,05	19,2	19,2	19,2	0	25,2	12,6	764
	7,5	13,6	10,55	4,6	9,5	7,05	7,8	17,8	12,8	0	0	0	618
	11,4	0	5,7	9,4	0	4,7	0	0	0	0	0	0	271
	13	0	6,5	4,3	0	2,15	8,5	0	4,25	0	0	0	255
AUSENCIA	24,2	0	12,1	5,4	0	2,7	0	0	0	0	0	0	148
	20,7	0	10,35	6,4	0	3,2	0	0	0	0	0	0	177
	12,6	0	6,3	4,7	0	2,35	0	0	0	0	0	0	169
	12,3	18,2	15,25	5,5	7,2	6,35	0	0	0	0	0	0	309
	16,7	16,5	16,6	8,6	8,3	8,45	0	0	0	0	0	0	228

### Apéndice R

*Acercamiento de las plántulas obtenidas bajo tratamiento de luz azul (a) y roja (b).*



**Apéndice S**

*Proporción de clorofila a respecto a la de clorofila b y carotenoides.*

	<b>Concentraciones promedio (µg/mg de muestra seca)</b>	<b>Relación Chl a / Chl b</b>	<b>Relación Chl a / Carotenoides</b>
<b>Clorofila a</b>	3.49	<b>3.15</b>	<b>5.55</b>
<b>Clorofila b</b>	1.09		
<b>Carotenoides</b>	0.62		