

SÍNTESIS DE ANTIOXIDANTES Y MODIFICACIONES MORFOLÓGICAS EN FUNCIÓN DE LA LUZ EN LECHUGA

García Cerrillo Alicia Giselle, Ruiz Nieto Jorge Eric, Mireles Arriaga Ana Isabel, Sanzón Gómez Diana, Sotelo González Javier Ulises

ingeniería en Agronomía, Universidad de Guanajuato | Dirección de correo electrónico: ag.garciacerrillo@ugto.mx

Departamento de Agronomía, División Ciencias de la Vida. Campus Irapuato-Salamanca. Universidad de Guanajuato | Dirección de correo electrónico: jorge.ruiz@ugto.mx

Resumen

Los radicales libres están asociados con el envejecimiento y enfermedades degenerativas, por lo cual, generar plantas como un alimento funcional fresco con posibles beneficios para la salud humana se vuelve indispensable. La luz es un factor esencial para el desarrollo de las plantas y su variación provoca respuestas bioquímicas como la síntesis de antioxidantes. El objetivo del estudio fue evaluar la síntesis de antioxidantes y las modificaciones morfológicas en lechuga en función de la luz. El experimento consistió en someter plantas de lechuga tipo Cos al final de su ciclo productivo a cinco tratamientos de luz con diferentes longitudes de onda en una cámara de crecimiento. Como variables morfológicas se evaluaron la altura de la planta, el número de hojas, el color, la biomasa del follaje y de la raíz; como variables bioquímicas se determinó la concentración de compuestos fenólicos y se evaluó la actividad antioxidante mediante el radical DPPH. Los tratamientos de luz roja y amarilla incrementaron la síntesis de antioxidantes naturales sin generar modificaciones considerables en la morfología de las plantas, por lo tanto, sería posible agregar un componente antioxidante funcional a las plantas al final de su ciclo productivo mediante el manejo preciso de la luz.

Abstract

Free radicals are associated with human aging and many degenerative diseases, whereby the generation of plants as fresh functional food with possible benefits for human health is indispensable. Light is an essential factor for the development of plants and its variation provokes biochemical responses as the synthesis of antioxidants. The aim of this study was to evaluate the synthesis of antioxidants and the morphological modifications in response to light. The experiment consisted in submitting lettuce plants type Cos at the end of their productive cycle to five light treatments with different length waves in a growing chamber. As morphological variables the height of the plants, the number of leaves, the color, the foliage and roots biomass were determined. As biochemical variables the concentration of phenolic compounds and antioxidant activity were determined. The treatments of red and yellow light increased the synthesis of natural antioxidants without generating considerable morphological modifications of the plants; therefore, it would be possible to add a functional antioxidant component to the plants at the end of their productive cycle through the precise management of the light without modifying the plants morphology

Palabras Clave

Lactuca sativa; longitud de onda; ROS; Alimentos Frescos Funcionales.

INTRODUCCIÓN

En la salud humana, los radicales libres son moléculas inestables con alta reactividad que limitan la estabilidad electroquímica celular y generan potenciales reacciones en cadena destructivas causantes de los procesos de envejecimiento y de algunas enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer, y que incluso pueden inducir daños en los ácidos nucleicos [1]. Los antioxidantes son compuestos naturales que actúan protegiendo a las células de la acción de los radicales libres y la incapacidad del cuerpo humano para neutralizarlos hace necesario incorporar dichos compuestos a la dieta mediante el consumo de alimentos funcionales, los cuales además de aportar nutrientes también proporcionan otras propiedades benéficas como los antioxidantes. Las plantas tienen una alta capacidad para generar metabolitos y enzimas con actividad antioxidante que evitan los daños causados por los radicales libres como el O_2^- y H_2O_2 . Algunos proyectos han evaluado la posibilidad de incrementar la cantidad de elementos antioxidantes en las plantas sometidas a diferentes condiciones de estrés abiótico, principalmente en especies donde el interés económico y los posibles beneficios para la salud humana se encuentran en el consumo de follaje como en el caso de la lechuga [2, 3, 4]. Por otro lado, al desarrollo mediado por la luz se le denomina fotomorfogénesis, donde los patrones de crecimiento de las plantas se modifican en respuesta al espectro de luz [5]; mientras que, el interés de este trabajo de investigación se centra en las modificaciones metabólicas en función de la luz, es decir, en la síntesis de antioxidantes mediante la exposición de plantas a diferentes longitudes de onda de luz, lo cual sería fácilmente controlable e incluso escalable a unidades productivas confinadas. Según Hyeon-Hye *et al.* (2004) [6], para la NASA, las plantas serán un importante componente de las misiones espaciales a largo plazo, por lo que investigan los sistemas de luz más adecuados para su cultivo, siendo los diodos LED (por sus siglas en inglés: Light Emitting Diode) la principal fuente de luz. Respecto a la importancia de la lechuga en nuestra región, el estado de Guanajuato destina la mayor superficie al cultivo de lechuga con 6,220 ha con una producción de 107,179 t al año [7]; a nivel mundial la producción total en 2014 fue de 24 976,318 t [8]. El objetivo del estudio fue evaluar la síntesis de antioxidantes y las modificaciones morfológicas en lechuga en función de la luz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El experimento se estableció en el laboratorio de Fitopatología del Departamento de Agronomía de la División de Ciencias de la Vida de la Universidad de Guanajuato. Como material vegetal, se utilizaron plántulas con 45 días de desarrollo de la variedad Siskiyou (Seminis), tipo Cos. Las plántulas se trasplantaron a macetas con sustrato tipo turba Peat Moss mezclado con perlita (30%). Las plantas se cultivaron durante 26 días en invernadero utilizando aplicaciones semanales de una solución nutritiva estándar para hortalizas en una concentración de 1.5 g L^{-1} y pH 6.0.

Tratamientos

Las plantas se sometieron durante siete días a cinco tratamientos con diferentes longitudes de onda de la luz en una cámara de crecimiento con un fotoperiodo de 12:12 utilizando dos lámparas LED de 8 W para cada tratamiento (Tabla 1). Como control externo, un grupo de plantas se mantuvo en el invernadero con luz natural.

Tabla 1. Descripción de las longitudes de onda de luz que se utilizaron como tratamientos.

Color	Longitud de onda (nm)	Iluminancia (lx)	Photo lux ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
Blanco	400 – 700	1680	2,352
Rojo	618 – 780	360	504
Amarillo	570 – 581	480	672
Verde	497 – 570	350	490
Azul	427 – 476	40	056
Invernadero	400 – 700	1680	2,352

Variables evaluadas

Se midieron los parámetros de luminosidad (L), la posición entre verde y rojo (a), así como entre amarillo y azul (b) mediante un colorímetro ColorFlex EZ. Se midió la altura de la planta (AP, cm) y se contabilizó el número de hojas (NH). Se determinó la biomasa total correspondiente al follaje (BF, g) y a la raíz (BR, g), deshidratando las muestras a 90 °C por 24 h. Respecto a las determinaciones bioquímicas, se midió la actividad antioxidante mediante el radical 2,2- difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) [9]. Las absorbancias se determinaron por espectrofotometría a 517 nm. Los extractos se prepararon siguiendo el procedimiento descrito por Martínez-Cruz *et al.* (2014) [10], como se muestra a continuación: 3 g de tejido se molieron mecánicamente utilizando 10 mL de metanol/agua destilada 30 %. El macerado se centrifugó a 3000 rpm durante 15 min y se recuperó el sobrenadante en un tubo nuevo. Del radical DPPH, 2.5 mg se diluyeron en 64.3 mL de metanol puro. Después, a 3 mL de la solución se agregaron 75 μL del extracto para cada muestra y se realizó la determinación por espectrofotometría. Para compuestos fenólicos, (CF) se realizó siguiendo el protocolo descrito por Awad *et al.* (2011) [11] y los resultados se expresaron como mg mL^{-1} de ácido gálico. Para lo anterior, 3 g de tejido se molieron mecánicamente con 10 mL de metanol/agua destilada 30 %. El macerado se centrifugó a 3000 rpm durante 15 min y se recuperó el sobrenadante en un tubo nuevo. Del extracto se tomaron 187 μL y se agregaron 1,406 μL de Folin-Ciocalteu (diluido 1:10 en agua destilada). Después de 5 min, se agregaron 1,406 μL de Na_2CO_3 20 % y la mezcla se aclimató 1 h a temperatura ambiente. Finalmente, la determinación espectrofotométrica se midió a 750 nm contra un blanco. La concentración de CF se determinó por comparación con una curva de calibración correspondiente.

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron en un diseño completamente al azar con cinco repeticiones realizando pruebas de separación de medias de Tukey (0.05), para lo anterior se utilizó el programa estadístico Minitab® 16.2.3.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Respecto a las variables morfológicas, en el color (L a b) y el NH no hubo diferencia significativa entre los tratamientos ($p > 0.05$). En la AP, el tratamiento que se utilizó de control externo (invernadero) generó plantas con poca altura, debido a que las plantas estuvieron sometidas a diversas fuentes de estrés abiótico y destinaron sus recursos a generar simultáneas respuestas de defensa, en comparación con las plantas que se mantuvieron en condiciones mejor controladas en la cámara de crecimiento. En los tratamientos que se mantuvieron en la cámara de crecimiento, la luz verde fue la que generó plantas con menor altura; de acuerdo con Johkan *et al.* (2010) [12], los tratamientos con luz azul y verde participan activamente en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Lo anterior indica también que la luz verde proporcionó mejores condiciones de

cultivo, puesto que las plantas no tuvieron que dedicar sus recursos para alargar sus tallos para responder al estrés lumínico, como en el caso de los tratamientos de luz amarilla y roja. Respecto a la BR, el tratamiento con luz blanca presentó el valor más alto de 0.56 g, posiblemente la luz blanca generó una mayor evaporación en el sustrato limitando más el agua disponible para las plantas respecto a los demás tratamientos, lo anterior coincide con lo reportado por Johkan *et al.* (2012) [13]. En las variables bioquímicas, en la determinación de CF, el tratamiento con luz roja indujo la mayor síntesis de dichos metabolitos y los resultados concuerdan con lo reportado por Li y Kubota (2009) [14]; y a diferencia de los resultados obtenidos en las plantas que se mantuvieron en el invernadero, ésta debería de corresponder principalmente a la respuesta antioxidante. El tratamiento con menor concentración de CF fue la luz verde, confirmando que pudieran ser las mejores condiciones de cultivo. En la determinación de la actividad antioxidante con el radical DPPH, los tratamientos rojo y amarillo obtuvieron porcentajes de 76.84 y 64.73 % respectivamente. Cabe mencionar que en esta variable un menor porcentaje indica una mayor presencia de metabolitos antioxidantes. De acuerdo con Kook *et al.* (2013) [15], el tratamiento de luz azul mostró el mayor desarrollo en número de hojas, biomasa de raíz y alta actividad antioxidante. Sin embargo, los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que los tratamientos con luz amarilla y roja generan mayor actividad antioxidante, las diferencias con Kook *et al.* (2013) [15] pueden deberse a que se utilizaron diferentes materiales vegetales. Los resultados se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Resultados del análisis de las variables bioquímicas y morfológicas en los tratamientos de luz.

Variable	Invernadero	Blanco	Rojo	Amarillo	Verde	Azul
DPPH**	82.4 a	85.6 a	76.8 ab	64.7 b	87.7 a	88.9 a
CF*	0.16 ab	0.11 ab	0.16 a	0.15 ab	0.10 b	0.13 ab
AP**	18.33 b	19.50 ab	23.00 a	22.00 a	19.83 a	21.67 a
NH	9.00 a	8.67 a	8.67 a	8.33 a	8.33 a	8.67 a
L	29.94 a	29.01 a	28.91 a	25.82 a	28.13 a	22.93 a
A	-5.75 a	-6.03 a	-6.00 a	-6.44 a	-5.65 a	-5.94 a
B	11.66 a	12.62 a	12.16 a	10.26 a	12.26 a	10.63 a
BF	2.1 a	2.5 a	1.8 a	2.1 a	2.3 a	2.3 a
BR	0.41 ab	0.56 a	0.36 ab	0.50 ab	0.31 ab	0.22 b

Actividad antioxidante (DPPH, %); compuestos fenólicos (CF, mg ml⁻¹); altura de la planta (AP, cm); número de hojas (NH); escala de blanco a negro (L); escala de verde a rojo (a); escala de azul a amarillo (b); biomasa del follaje (BF, g); biomasa de la raíz (BR, g). Diferencias altamente significativas p<0.01 (**); diferencias significativas p<0.05 (*); diferencias no significativas p>0.05.

En el presente estudio, las mediciones bioquímicas indican que es posible incrementar la síntesis de compuestos antioxidantes mediante el manejo preciso de la luz y los resultados obtenidos en las determinaciones morfológicas indican que no hay modificaciones importantes, sin embargo, se tendrían que realizar determinaciones complementarias como la forma y el área foliar, entre otras.

CONCLUSIONES

Los tratamientos de luz roja y amarilla fueron los que mejor estimularon la respuesta antioxidante, la variable morfológica principal que modificó fue la altura de las plantas, aunque se podría corregir evaluando diferentes niveles de iluminancia.

Los resultados sugieren que se puede incrementar la concentración de compuestos antioxidantes en el follaje sin modificar las variables morfológicas de manera considerable en las plantas de lechuga al final de su ciclo productivo.

REFERENCIAS

- [1] Benavides-Mendoza H. & Ramírez-Fuentes L. (2009). Antioxidantes en las plantas: Algunos Factores edáficos y ambientales que los modifican. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. 12-26.
- [2] Galièni, A., Di Mattia, C., de Gregorio, M., Speca, S., Mastrocola, D., Pisante, M. & Stagnari, F. (2015). Effects of nutrient deficiency and abiotic environmental stresses on yield, phenolic compounds and antiradical activity in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Sci. Hortic.* 187, 93-101.
- [3] Chisari, M., Todaro, A., Barbagallo, R. N. & Spagna, G. (2010). Salinity effects on enzymatic browning and antioxidant capacity of fresh-cut baby Romaine lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. Duende). *Food Chem.* 119(4), 1502-1506.
- [4] Oh, M. M., Carey, E. E., & Rajashekar, C. B. (2009). Environmental stresses induce health-promoting phytochemicals in lettuce. *Plant Physiol.* Biochem. 47(7), 578-583.
- [5] Parks, B. M. (2003). The red side of photomorphogenesis. *Plant physiology*, 133(4), 1437-1444.
- [6] Hyeon-Hye, K., Goins, G. D., Wheeler, R. M. & Sager, J. S. (2004). Green-light supplementation for enhanced Lettuce growth under red and blue-light-emitting diodes. *Hortscience*. 39(7), 1617-1622.
- [7] SIAP. (2016). Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. <http://www.gob.mx/siap/> (Consultado el 24 de junio del 2018).
- [8] Faostat (2014). Información agrícola, producción por cultivos. Food and Agriculture Organization. (Consultado el 24 de junio del 2018).
- [9] Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT.* 28(1), 25-30.
- [10] Martínez-Cruz, O. & Paredes-López, O. (2014). Phytochemical profile and nutraceutical potential of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) by ultra high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.* 1346, 43-48.
- [11] Awad, M. A., Al-qurashi, A. D. & Mohamed, S. A. (2011). Antioxidant capacity, antioxidant compounds and antioxidant enzyme activities in five date cultivars during development and ripening. *Scientia Horticulturae*, 129(4), 688-693.
- [12] Johkan, M., Shoji, K., Goto, F., Hashida, S. N. & Yoshihara, T. (2010). Blue light-emitting diode light irradiation of seedlings improves seedling quality and growth after transplanting in red leaf lettuce. *HortScience*. 45(12), 1809-1814.
- [13] Johkan, M., Shoji, K., Goto, F., Hahida, S. & Yoshihara, T. (2012). Effect of green light wavelength and intensity on photomorphogenesis and photosynthesis in *Lactuca sativa*. *Environ. Exp. Bot.* 75, 128-133.
- [14] Li, Q. & Kubota, C. (2009). Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce. *Environ. Exp. Bot.* 67(1), 59-64.
- [15] Kook, H. S., Park, S. H., Jang, Y. J., Lee, G. W., Kim, J. S., Kim, H. M., Oh, B. T., Chae, J. C. & Lee, K. J. (2013). Blue LED (light-emitting diodes)-mediated growth promotion and control of *Botrytis* disease in lettuce. *Acta Agric. Scand. B.* 63(3), 271-277.