

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Contenido de Pigmentos Fotosintéticos por Efecto de la Frecuencia e Intensidad de
Cosecha en *Lotus corniculatus* L.

Por:

GRISELDA ANALIA HERNÁNDEZ DUCOING

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dr. Josué Israel García López
Asesor Principal


Dr. Perpetuo Álvarez Vázquez
Coasesor


Dr. Antonio Flores Naveda
Coasesor


Dr. Jerónimo Landeros Flores
Coordinador Interino de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Junio 2023



DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, graficas, mapas o datos sin citar a autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como en el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Pasante



Griselda Analia Hernández Ducoing

AGRADECIMIENTOS

A Dios por ser mi guía en este camino lleno de obstáculos y llevarme a cometer cada una de mis metas.

A mi Alma Terra Mater; Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por ser un hogar dónde me brindaron la mejor de las oportunidades para estudiar. Que me llena de orgullo el formar parte de ella.

A mi madre, Ma. Griselda Ducoing, por su apoyo incondicional, por la confianza que siempre ha depositado en mí, y el ser mi mayor ejemplo para querer seguir adelante.

A mi asesor, Dr. Josué Israel García López por darme la oportunidad y apoyo para trabajar en este proyecto.

A cada uno de mis maestros, quienes me apoyaron en cada una de mis materias y tener un mayor aprovechamiento académico.

A mi novio; Carlos Méndez por el apoyo que me brinda siempre para salir adelante.

A mis compañeros y amigos, Dolores Lerma, Hugo Méndez, Edgar Ramírez, Salma Galván, Antonio López, Diego López, quienes me brindaron su apoyo, aventuras, risas y atenciones durante estos cinco años.

“A todos aquellos que formaron parte de esta etapa de mi vida y de este proyecto con gran éxito”. Mi más sincero agradecimiento.

DEDICATORIA

A mi madre Ma. Griselda Ducoing Soria, por siempre estar para mí, con su amor incondicional, con cada uno de los sacrificios y por siempre apoyarme en cada una de mis metas y por ser mi mayor pedestal para salir adelante.

A mis hermanos Abraham Ducoing, María del Carmen Ducoing, por ser parte de cada uno de mis logros y que siempre vean en mí el ejemplo de que siempre se puede salir adelante, por haberme demostrado cariño, comprensión y confianza en todo momento.

A mis abuelos Ramiro Ducoing, Oliva Soria, por ser parte de mi formación y convertirme en la persona que hoy soy, todas sus enseñanzas y todo el amor que me dieron y dan siempre.

“A todos ustedes muchas gracias”

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA	ii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO.....	iii
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN	vi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivo.....	2
1.2 Hipótesis.....	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Importancia y generalidades del género <i>Lotus</i>	3
2.2 Importancia de la clorofila en las plantas.....	6
2.3 Clorosis	6
2.4 Tipos de clorofila	7
2.5 Factores que afectan la fotosíntesis.....	8
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
3.1 Sitio experimental	11
3.2 Establecimiento y manejo del experimento	11
3.3 Diseño experimental.....	11
3.4 Determinación de parámetros fisiológicos.....	12
3.5 Análisis estadístico.....	12
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
4.1 Resultados del ANOVA.....	14
4.2 Contenido de clorofila a y b	15
4.3 Contenido de clorofila total y carotenoides	16
5. CONCLUSIONES.....	18
6. LITERATURA CITADA.....	19

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para el contenido de clorofila y carotenoides por la influencia de diferentes frecuencias e intensidades de corte en <i>Lotus corniculatus</i> L.	14
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Contenido de clorofila a y b por la influencia de diferentes frecuencias e intensidades de corte en <i>Lotus corniculatus</i> L.....	15
Figura 2. Contenido de clorofila total y carotenoides por la influencia de diferentes frecuencias e intensidades de corte en <i>Lotus corniculatus</i> L.....	16

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar el impacto de las frecuencias de corte (días después del rebrote DDR) y la intensidad de corte (altura cm) en el contenido de clorofilas y carotenoides en plantas de *Lotus corniculatus* L. El cultivo se desarrolló en el invernadero, y fue cultivado en macetas de 18 x 20 cm, las fuentes de variación fueron frecuencias de corte (77, 84 y 91 días) y la intensidad de corte (3, 6 y 9 cm de altura). Los ANOVAS indican que la fuente de variación frecuencia de corte establecida en DDR, fue la única que generó un efecto significativo ($p \leq 0,05$) en el contenido de clorofilas y carotenoides en las plantas de *Lotus corniculatus* L, mientras que las fuentes de variación intensidad de corte (altura cm) y la interacción Frec*Inten (días*altura) no presentan influencia significativa. Los resultados permiten identificar que a mayor cantidad de días después del rebrote (91 DDR), el contenido de clorofila a y b disminuye en 56.18 y 64.45% en comparación con 77 DDR. La misma tendencia se presenta en la concentración de clorofilas totales y carotenoides. Las disminuciones en el comportamiento de parámetros fisiológicos en relación con el paso del tiempo (DDR), puede deberse al estadio vegetativo de la planta y sus estructuras morfológicas.

Palabras clave: *Lotus corniculatus* L.; frecuencias de corte; intensidad de corte; parámetros fisiológicos.

1. INTRODUCCIÓN

El proceso de fotosíntesis consta de dos partes: las reacciones luminosas que tienen lugar en el sistema de membranas del tilacoide y que producen ATP y NADPH, además de las reacciones carbónicas independientes de la luz que utilizan el ATP y el NADPH para fijar el CO₂ atmosférico en moléculas orgánicas (Cardona *et al.*, 2018). Sin embargo, numerosos factores influyen en que se lleven con éxito los procesos que intervienen en la fotosíntesis, entre los cuales se encuentran la temperatura, la radiación solar, las precipitaciones, la etapa vegetativa de la planta, la nutrición y el manejo (Fortes *et al.*, 2009).

En las hojas de las plantas la intensidad de color verde se debe a la presencia de pigmentos fotosintéticos (clorofilas). En el proceso de fotosíntesis, los carotenoides ayudan a captar la luz, pero también tienen otra función importante, ya que se consideran la primera línea de defensa contra la acumulación de H₂O₂, no obstante, a medida que incrementa la edad de las hojas, se ve afectada la eficiencia fisiológica para la síntesis de clorofilas (García-López *et al.*, 2019). Por lo tanto, los aumentos de clorofila y carotenoides en las plantas podrían estar directamente relacionado con la eficiencia fotosintética de la hoja, que está en relación con su edad.

Por lo anterior, para un mejor entendimiento de la relación que existe entre la concentración de pigmentos fotosintéticos y la edad y/o etapa fenológica de la planta, es conveniente llevar a cabo estudios que determinen de forma cuantitativa la concentración de clorofilas con muestreos en diferentes etapas durante el ciclo de desarrollo de un cultivo de interés. En atención a lo anterior, el objetivo del presente estudio consistió en conocer el comportamiento de los pigmentos verdes y carotenoides, según los días después del rebrote (DDR) y la intensidad de corte (altura cm) en el contenido de clorofilas y carotenoides en *Lotus corniculatus* L.

1.1 Objetivo

Determinar el impacto de las frecuencias (77, 84 y 91 DDR) y la intensidad de corte (3, 6 y 9 cm de altura) en el contenido de clorofilas y carotenoides en *Lotus corniculatus* L.

1.2 Hipótesis

H_i: Las frecuencias (77, 84 y 91 DDR) y la intensidad de corte (3, 6 y 9 cm de altura) modificarán el contenido de clorofilas y carotenoides en *Lotus corniculatus* L.

H₀: Las frecuencias (77, 84 y 91 DDR) y la intensidad de corte (3, 6 y 9 cm de altura) no modificarán el contenido de clorofilas y carotenoides en *Lotus corniculatus* L.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Importancia y generalidades del género *Lotus*

El género *Lotus* es originario de la región Mediterránea y América del Norte, comprende más de 120 especies, siendo *Lotus corniculatus* L. usada agronómicamente (Monza-Galetti *et al.*, 1991), es una leguminosa de gran adaptación, que por su parte el nitrógeno es una de las principales limitantes para un buen crecimiento y desarrollo del cultivo, estas son capaces por simbiosis tener captación de nitrógeno atmosférico por medio de la enzima nitrogenasa, a través de un proceso de interacciones metabólicas el sistema que es controlado por una serie de mecanismos bioquímicos y genéticos.

Se están considerando algunas alternativas, siendo *Lotus caucasicus* Kup una de las más conocidas. Los nombres comunes incluyen "Loto de pie de pájaro", "Loto", "Loto común", "Loto coriculado" y "cornichao". Tiene un hábito de crecimiento erecto, folíolos obovados-lanceolados de color verde claro que tienen al menos la mitad de su longitud anchos, típicamente glabros, pero esporádicamente de crecimiento ligeramente veloso. Muy raramente hueco y fuerte, sus tallos tienen entrenudos relativamente largos. Umbela con dos a seis flores amarillas de al menos 15 mm de largo (Ramírez- Hernández, 2017).

En comparación con el resto de los lotus, los frutos tienen vainas más largas y fuertes y semillas más grandes hipocotíleo verde y epicótilo verde glabro en la planta. El análisis de crecimiento es una herramienta para comprender la formación y acumulación de biomasa, lo que ayuda a determinar la composición morfológica del cultivo en cada etapa de crecimiento. También permite definir el rendimiento por hectárea de hojas, tallos y material muerto que puede ser utilizado como indicador de calidad del forraje cosechado. (Castillo-Cabrera *et al.*; 2023).

Lotus corniculatus L. es un lotus de los más importantes científica y ecológicamente, ya que esta leguminosa es pionera, coloniza suelos marginales y contaminados. Puede crecer en suelos alcalinos o ácidos y muestra alta tolerancia al aluminio, manganeso y salinidad, naturalmente ocurre en diferentes suelos ricos en metales, incluyendo ultramáficos, lo que indica su alta adaptabilidad. Sin embargo, el conocimiento sobre la capacidad de tolerancia a los metales de las leguminosas ultramáficas y sus rizobios asociados incluyendo su diversidad, tolerancia a metales, crecimiento de plantas, la promoción de habilidades y relaciones simbióticas es limitada (Diez-Lázaro, 2008).

Las leguminosas tienen un papel crítico para diferentes ecosistemas y sobre todo en la agricultura, entre la gran variedad de las leguminosas es de importancia el género *Lotus*, se encuentran las siguientes:

- *Lotus corniculatus* var. *crassifolia* Fr.
- *Lotus corniculatus* var. *kochii* Chrtková
- *Lotus corniculatus* var. *maritimus* Rupr.
- *Lotus corniculatus* ssp. *Afghanicus* Chrtková
- *Lotus corniculatus* ssp. *carpetanus* (Lacaíta) Rivas-Mart.
- *Lotus corniculatus* ssp. *corniculatus* L.
- *Lotus corniculatus* ssp. *frondosus* Freyn
- *Lotus corniculatus* ssp. *fruticosus* Chrtková
- *Lotus corniculatus* var. *japonicus* Regel

Conocido como trébol pata de pájaro (*Lotus corniculatus* L.) es considerado como una buena alternativa para la industria y sector económico agrícola, como alimento para el ganado bovino y caprino, considerando que son animales de clima templado, tienen un mayor aprovechamiento para obtener leche con vitaminas A y E de mejor calidad, y mejora en la producción de lana. Uruguay es uno de los países donde el trébol pata de pájaro es ampliamente utilizado en sistemas ganaderos, agrícola-ganaderos y lecheros (INIA, 2010).

Su producción se puede llevar a cabo en suelos con deficiencias y baja fertilidad, así como con suelos de mal drenaje debido a su raíz pivotante, ramificada y profunda, aportando la disminución de gas metano benéfico para el medio ambiente (Santacoloma *et al.*, 2015).

Lotus corniculatus tiene como característica la presencia de taninos, donde esto ayuda a que al animal al consumirlo no le provoque timpanismo (Lagler, 2003), por su excelente calidad en proteína, y su capacidad de adaptación a diferentes suelos ayudando a la mejora de los mismos con mayor disponibilidad de nitrógeno para otras especies. A pesar de ser una especie forrajera de crecimiento lento y delicado en su majeo, presenta tolerancia a condiciones edáficas extremas de sequía o bien inundación (Álvarez, 2017).

Este cultivo se utiliza de manera exitosa para el control de procesos de erosión y biorremediador para los suelos contaminados por selenio, boro y otros elementos contaminantes. Las semillas tienen una escasez, son de gran problema para mantener su uso, el método para resolverlo es por medio de un ajuste racional de la densidad de siembra y selección de semillas de alta calidad, dándoles el mejor seguimiento con fungicidas y una buena instalación (Pauletti, 2018).

El uso de semilla en el sector agrícola se clasifica para áreas de pasturas asociadas y dentro de éstas ocupa el 40 %. En lechería, un caso extremo es el de la avena con valores mayores al 45 % de uso propio, mientras que el Trébol Rojo y *lotus* que se utiliza en mezclas proviene de semilla propia en un 35 y 25 %, respectivamente (Zarza, 2012). La alfalfa y el trébol blanco son cultivos con el que es comparado *Lotus corniculatus* L. por su comportamiento de crecimiento, ya que el rendimiento y la calidad nutricional son similares o bien superiores a estas especies, con menor porcentaje de celulosa y más carbohidratos, sin embargo, las especies forrajeras por su proactividad tienen como función de la acumulación de forraje (Hernández-Ramírez, 2017).

2.2 Importancia de la clorofila en las plantas

La clorofila es un pigmento color verde importante para la fotosíntesis de las plantas, permitiendo obtener energía transformándola en compuestos orgánicos y oxígeno. La molécula de clorofila capta el fotón de luz, el electrón pasa de un estado base a excitación, generando el movimiento necesario para llegar al núcleo del proceso fotoquímico y su transformación en energía (Pacheco y Rodriguez, 2020).

Las plantas tienen una concentración de clorofila en sus hojas, factor que se mide en parámetros, regularmente con indicadores del contenido del cloroplasto, sus mecanismos fotosintéticos y su metabolismo vegetal. La clorofila está compuesta por antioxidantes almacenado en el cloroplasto principalmente en hojas, tallos y raíces. La reproducción depende de la captación de luz, la cual es la principal fuente de energía para las plantas, para la obtención de clorofila se puede utilizar un procedimiento de extracción por mortero y así obtener los pigmentos por medio de un disolvente. La clorofila a y b resultan ser esenciales para las plantas en su fotosistema (Kamble y Tiwana, 2015).

La clorofila tiene un papel importante en la fisiología de la planta, su contenido de clorofila en la hoja puede brindar información del estado fisiológico, condición de una hoja o planta, en el caso de salud es utilizada para la disminución del azúcar en la sangre y otras enfermedades. La clorofila es una macromolécula importante que nos indica el rendimiento tanto de la fotosíntesis como la energía en uso (Kamble y Tiwana, 2015).

2.3 Clorosis

El amarillamiento del tejido de la hoja conocido como clorosis es provocado por la falta de clorofila. La clorosis puede ser provocada por un drenaje deficiente, raíces debilitadas o compactadas, alta alcalinidad y deficiencias de nutrientes en las plantas. La disponibilidad inadecuada de nutrientes debido al alto pH (suelo alcalino) o la deficiencia de nutrientes en el suelo puede provocar deficiencias nutricionales (García-Gómez *et al.*, 2017).

La clorosis también es causada por la falta de zinc o manganeso en la planta. Al observar qué el follaje se volvió clorótico primero, se puede diferenciar la deficiencia de hierro de la deficiencia de zinc o manganeso. Las hojas más jóvenes o terminales son las primeras afectadas por la clorosis por deficiencia de hierro y, con el tiempo, las hojas más viejas también se ven afectadas. Por otro lado, las deficiencias de manganeso y zinc aparecen primero en las hojas internas más viejas antes de pasar a las hojas exteriores más jóvenes. Para producir clorofila, las plantas necesitan hierro (Partida *et al.*, 2022).

El color verde de las hojas se debe a la clorofila, que también es necesaria para que la planta produzca el alimento que necesita para crecer. Varios procesos enzimáticos que activan el metabolismo y la respiración de las plantas también requieren hierro se vuelve cada vez más insoluble. Solo cuando el pH está entre 5 y 6, la mayoría de las plantas pueden absorber el hierro como ion libre (Larbi, 2002). Dependiendo de la causa subyacente, existen diferentes tratamientos para la clorosis, si la causa de la clorosis es un desarrollo deficiente de las raíces, drenaje inadecuado, compactación del suelo o raíces dañadas, será necesario airear, labrar, cubrir con mantillo (Larbi, 2002).

2.4 Tipos de clorofila

Todas las plantas tienen contenido de clorofila, hay tipos de clorofila como la a, b, c1, c2, c3 y clorofila d, siendo estos últimos los menos comunes. Algunas plantas contienen más clorofila a que clorofila b, la cual van perdiendo con forme envejecen. La clorofila a refleja luz en color verde-azul, por otro lado, la clorofila b refleja colores amarillo-verde sabiendo que esto solo se diferencia en las tonalidades de verdes. Todas las plantas fotosintéticas, algas y cianobacterias contienen clorofila a, mientras que solo las plantas y algas verdes contienen clorofila b (Manrique-Reol, 2003).

Clorofila a, son todos los organismos capaces de realizar la fotosíntesis, entre ellos se encuentran las algas y plantas. Está presente en los cloroplastos con una capacidad de absorber la luz en la longitud del espectro visible, es así que con la transformación de energía lumínica se convierte en energía química. Por su lado la clorofila B es un tipo de clorofila

que también posee una coloración verde, su principal función es aumentar la capacidad de absorción de luz de la clorofila A. La clorofila B está presente en algas y árboles (Rivera *et al.*, 2005). La clorofila C puede encontrarse en algunas algas, como en el grupo de los dinoflagelados, ayudando a la clorofila A a absorber la luz solar, solo está presente en el periodo inicial del proceso de fotosíntesis. La clorofila D solo ha sido observado de forma aislada y no constante en un alga roja (Acosta, 2020).

2.5 Factores que afectan la fotosíntesis

Para que se generen electrones en una hoja cuyo contenido de clorofila es constante se dice que teóricamente debe ser proporcional a la cantidad de luz que recibe. Sin embargo, cuando se empieza el proceso de fotosíntesis se agrega CO₂, vemos que solo aumenta linealmente con la radiación incidente hasta un punto a partir del cual, por mucho que aumente la luz, la hoja ya no puede absorber más CO₂ disponible. El que se mueva a menor velocidad en un momento dado, es el factor limitante. Como resultado, se pierde una cantidad significativa de energía las clorofilas no pueden transferir la energía que absorben al sistema fotoquímico en cambio debe ser expulsado sin daño (Manrique, 2003).

Tanto los factores internos como los externos pueden tener un impacto en el proceso de fotosíntesis. Por otro lado, las condiciones ambientales, la edad, el genotipo y las características estructurales de la planta son los principales factores internos. Las variables externas son la acumulación de los subproductos de la fotosíntesis en la hoja y su contenido de clorofila en las enzimas del protoplasma tiene un impacto en los cloroplastos (Manrique, 2003). Además de H₂O y CO₂, los pigmentos fotosintéticos también requieren energía luminosa para que se produzca la fotosíntesis, donde ciertos elementos pueden aumentar o disminuir su eficiencia, algunos de los elementos que afectan la fotosíntesis son:

Los niveles de CO₂, si la cantidad en el aire es alta, la fotosíntesis aumentará bajo una alta intensidad de luz hasta que se estabilice en un punto determinado. Al convertir el CO₂ atmosférico en los carbohidratos que necesitan para crecer durante el día y liberar oxígeno en el proceso, las plantas, con la ayuda de la luz solar y el proceso de fotosíntesis, capturan

el CO₂ atmosférico. De la noche a la mañana, el proceso da la vuelta y libera CO₂ mientras captura oxígeno (Envira, 2020). El contenido de oxígeno debido a los procesos de fotorrespiración, el rendimiento fotosintético disminuye a medida que aumenta la concentración de oxígeno atmosférico (Santamaría, 2023).

Además, cuando el agua escasea la eficiencia fotosintética disminuye por la falta de agua en el suelo y de vapor de agua en el aire, dado que las estomas se cierran en ausencia de agua para evitar la desecación, hay menos entrada de CO₂. Se produce un incremento en la actividad de las enzimas antioxidantes que contribuyen a la disminución de los daños para la supervivencia (Jarma-Orozco *et al.*, 2012).

Con el paso del tiempo, cada especie ha evolucionado para tolerar una variedad de temperaturas, donde las más altas dan como resultado enzimas más eficientes y, en consecuencia, una actividad fotosintética más eficaz. Las altas temperaturas pueden afectar negativamente la fotosíntesis, la respiración, las relaciones hídricas y la estabilidad de la membrana, la regulación hormonal y el metabolismo secundario en las plantas. Esto causará problemas con la erosión genética y resultará en la extinción de muchas especies de plantas. En las especies C₃ en particular, la fotosíntesis neta aumenta constantemente con el aumento de CO₂, pero cae a altas temperaturas debido a la elevada fotorrespiración. La tasa fotosintética, la difusión estomática, la partición de asimilados y el crecimiento general de la planta se ven afectados negativamente por la exposición al ozono. Si se producen alteraciones enzimáticas y el rendimiento se ve afectado cuando se superan los límites de temperatura, la muerte de la planta resulta de la desnaturalización de la proteína (Jarma-Orozco *et al.*, 2012).

En el caso del tiempo de iluminación en algunas especies, la eficiencia fotosintética aumenta con el número de horas de luz, así como aquellos que necesitan períodos nocturnos. La iluminación además de ser una fuente vital de energía para las plantas durante la fotosíntesis, la luz en las plantas también es crucial para fomentar y promover su crecimiento, tienen sistemas de iluminación para llevar a cabo un control en horas luz como consecuencia para producción en ambiente controlado ya que en algunos casos son cruciales en todos los

sentidos donde actualmente contamos con desarrollos tecnológicos para un desarrollo óptimo (Paniagua-Pardo, 2015).

Existen especies tanto fotófilas como de penumbra, es decir que en cuanto mayor sea la iluminación dentro de cada intervalo, mayor será el rendimiento, hasta que supere un cierto punto en el que los pigmentos utilizados para la reproducción fotosintética sufren una fotooxidación irreversible. Las plantas C4 rinden más que las plantas C3 para la misma cantidad de luz y nunca alcanzan la saturación de luz (Carril, 2011). Las tonalidades de la luz tienen porciones azul y roja del espectro electromagnético, que son absorbidas por las clorofilas a y b, mientras que la porción azul es absorbida por los carotenos y las xantofilas, seguidas por las porciones naranja y verde del espectro, todos estos pigmentos transfieren energía. En organismos que carecen de ficocianinas y ficoeritrinas, la luz verde es la fuente de luz monocromática menos útil (Bonifacio, 2020).

Un análisis de crecimiento de una especie forrajera, describió el comportamiento de sus componentes morfológicos que son influenciados por la luz, la temperatura, la disponibilidad de agua y por manejos de la defoliación menciona que la edad de cosecha afecta a los genotipos de *L. corniculatus*, siendo mayor uno al resto de los genotipos en la altura, relación hoja - tallo, y peso por tallo individual, no en rendimiento de forraje y composición botánica y morfológica (Guzmán, *et al.*, 2021).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Sitio experimental

El experimento se realizó bajo condiciones controladas de invernadero, el lugar se ubica en las siguientes coordenadas 25° 23' 12.7" de LN, 101° 00' 9.8" LW a una altitud de 1783 m, con clima templado semiseco, la máxima temperatura fue de 41.1 °C y una mínima de 5.4 °C (Climate-Data-org, 2010).

3.2 Establecimiento y manejo del experimento

Plantas de *Lotus corniculatus* L. (genotipo 255301) fueron utilizadas como modelo experimental, las cuales fueron proporcionados por Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Edo. De México. El cultivo se desarrolló en el invernadero, y fue cultivado en macetas de 18 x 20 cm, al inició se realizó un corte de uniformización. Posteriormente, se realizaron cortes en las siguientes fechas; 18 de marzo para un corte severo (CSE), 11 de marzo para un corte óptimo (COP) y 04 de marzo para un corte ligero (CLI), todos realizados en el ciclo de producción del año 2022. Los riegos se realizaron diariamente, a fin de mantener el sustrato con humedad de capacidad de campo.

3.3 Diseño experimental

Las fuentes de variación consideradas fueron la influencia de las frecuencias de corte (77, 84 y 91 días), y la intensidad de corte (3, 6 y 9 cm de altura). Para cada tratamiento se establecieron cuatro repeticiones, cada unidad experimental fue conformada por dos plantas. Los muestreos se realizaron a un corte severo (CSE) cada 28 días, corte óptimo (COP) cada 35 días y corte ligero (CLI) cada 42 días. Dentro de cada frecuencia de corte la planta fue cosechada a tres intensidades de cosecha a 3, 6 y 9 cm, respectivamente. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con cuatro repeticiones.

3.4 Determinación de parámetros fisiológicos

3.4.1 Contenido de pigmentos de clorofila y carotenoides

La evaluación cuantitativa de clorofila-a (CHLa), clorofila-b (CHLb), clorofila total (CHLt) y carotenoides se llevó a cabo en cada uno de los muestreos (Macalacham y Zalik, 1963; Rajput y Patil, 2017). Para ello, se tomó 1 g de material de hojas frescas y se homogeneizó con 10 mL de acetona al 80%, enseguida el extracto se centrifugó a 5000 rpm durante 5 min. El sobrenadante se recuperó para ser analizado, y la absorbancia de la solución extraída se midió a 480, 510, 645 y 663 nm, a partir de estas lecturas, se determinaron las concentraciones de pigmento de clorofilas y carotenoides utilizando la siguiente fórmula/ecuación:

$$\text{Chlorophyll - a } mg \text{ g}^{-1} \text{ FW} = \frac{12.7 (A_{663}) - 2.69 (A_{645}) \times V}{1000} \times W$$

$$\text{Chlorophyll - b } mg \text{ g}^{-1} \text{ FW} = \frac{22.9 (A_{645}) - 4.68 (A_{663}) \times V}{1000} \times W$$

$$\text{Total chlorophyll } mg \text{ g}^{-1} \text{ FW} = \frac{20.2 (A_{645}) + 8.02 (A_{663}) \times V}{1000} \times W$$

$$\text{Carotenoid } mg \text{ g}^{-1} \text{ FW} = \frac{7.6 (A_{480}) - 1.49 (A_{510}) \times V}{1000} \times W$$

Donde;

A = Absorbancia a longitudes de onda específicas

V = Volumen final de extracto de clorofila en acetona al 80%

W = Peso fresco de tejido extraído

3.5 Análisis estadístico

Para determinar la influencia de las fuentes de variación frecuencias de corte (días), y la intensidad de corte (altura cm) en el contenido de clorofilas y carotenoides en *Lotus corniculatus L*, se realizó un análisis de varianza bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3³, considerando al factor “A” como las frecuencias de corte (77, 84 y 91 días), y al factor “B” como la intensidad de corte (3, 6 y 9 cm), con tres tratamientos y cuatro

repeticiones, utilizando el paquete estadístico SPSS versión 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Los resultados se informaron como valores medios de tres muestras \pm desviación estándar.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados del ANOVA

Los resultados del ANOVA (Cuadro 1) indican que la fuente de variación frecuencia de corte establecida DDR, fue la única que generó un efecto significativo ($p \leq 0,05$) en el contenido de clorofilas y carotenoides en las plantas de *Lotus corniculatus* L, mientras que las fuentes de variación intensidad de corte (altura cm) y la interacción Frec*Inten (días*altura) no presentan influencia significativa. Con relación a esto, en el siguiente apartado se presentarán a detalle los resultados de la comparación de medias para la fuente de variación frecuencias de corte (DDR).

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para el contenido de clorofila y carotenoides por la influencia de diferentes frecuencias e intensidades de corte en *Lotus corniculatus* L.

FV	Gl	CA (mg g ⁻¹ PF)	CB (mg g ⁻¹ PF)	CT (mg g ⁻¹ PF)	CAR (mg g ⁻¹ PF)
Frecuencia de corte (días)	2	237646.54*	39321.68*	441719.20*	286761.89*
Intensidad de corte (altura cm)	2	5229335.12	848468.65	9221311.26	39991300.02
Frec*Inten (días*altura)	4	173149.34	52723.89	346077.08	629713.46
Error	26	97523.49	30377.37	167065.72	145265.62
CV		33.75	41.22	26.33	37.89

*, ** Significativo al 0.05 y 0.01 de probabilidad respectivamente; FV= Fuentes de variación; GL= Grados de libertad; CV= Coeficiente de variación; CA = clorofila-a; CB = clorofila-b; CT = Clorofila total; CAR= carotenoides.

4.2 Contenido de clorofila a y b

En la Figura 1a y b, se puede observar que a medida que se incrementan los días después del rebrote se presenta una disminución significativa en el contenido de clorofilas a y b. A los 91 DDR, se presenta una disminución del contenido de clorofila a y b en 56.18 y 64.45%, respectivamente, en comparación con los 77 DDR. Otros estudios reportan una tendencia similar, dónde la mayor concentración de clorofila a y b en plantas de *Pennisetum purpureum* vc. se presentó a los 30 DDR, mientras que el menor contenido a los 90 DDR (Fortes *et al.*, 2009). Por estos resultados, podemos considerar que la madurez o edad de las hojas, está estrechamente relacionada con el contenido de clorofilas.

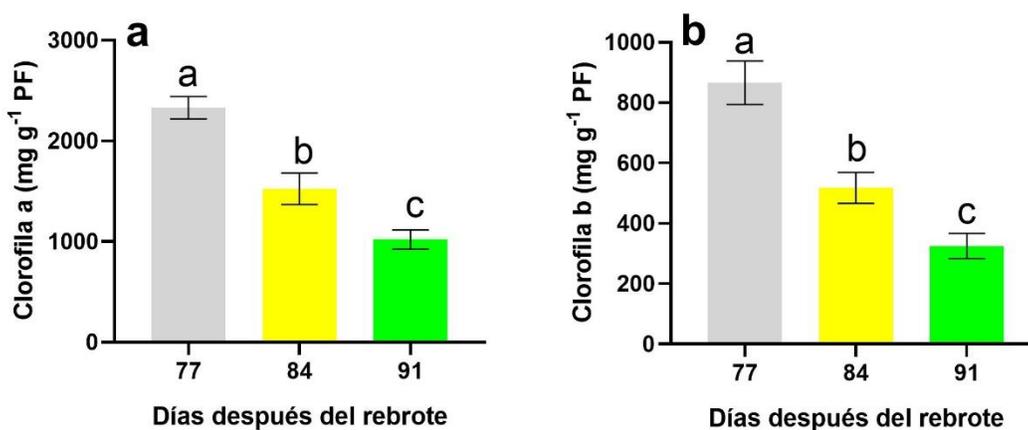


Figura 1. Contenido de clorofila a y b por la influencia de diferentes frecuencias e intensidades de corte en *Lotus corniculatus* L.

El envejecimiento de las hojas está estrechamente relacionado con reducciones en el contenido de clorofilas, debido a una disminución en la eficiencia fotoquímica del fotosistema II, además de variaciones en la expresión de genes relacionados con la fotosíntesis y en la síntesis de proteína, lo que a su vez influye en la absorción de CO₂ y energía luminosa. Estas razones pueden ayudar a explicar cómo los DDR afectan el contenido de clorofilas, ya que con el paso del tiempo las hojas de la planta inician un periodo de senescencia (Zhang *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2007).

4.3 Contenido de clorofila total y carotenoides

La concentración de clorofila total y carotenoides presentaron la misma tendencia a disminuir, conforme pasan los DDR (Figura 2a y b). En 91 DDR, la clorofila total presentó una disminución del 51.86 %, mientras que los carotenoides se redujeron en 77.25 %, ambos en comparación con 77 DDR. Estos resultados, permiten comprender el efecto que tienen los DDR en parámetros fisiológicos de importancia para el funcionamiento de las plantas, como es la síntesis de clorofilas y la asimilación de CO₂.

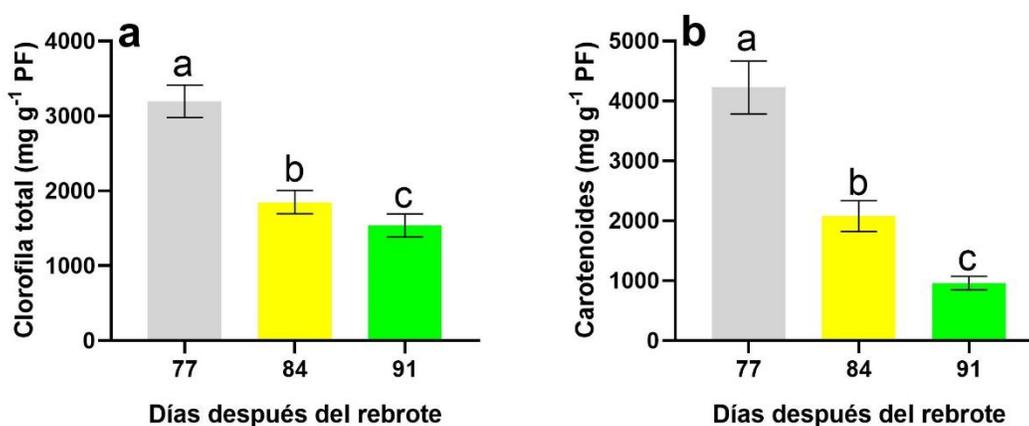


Figura 2. Contenido de clorofila total y carotenoides por la influencia de diferentes frecuencias e intensidades de corte en *Lotus corniculatus* L.

Estudios realizados en pastos *Brachiaria* asociados a cortes de 60 días, se encontraron valores de SPAD de 51,6 en Decumbens, 50,1 en Mulato y de 51,2 unidades de SPAD en pasto Toledo (Rincón y Ligarreto, 2010), sin embargo, los autores mencionan que a medida que se incrementan los días de corte la acumulación de clorofilas totales y carotenoides disminuyeron.

Estos resultados se deben a que la cantidad y calidad de clorofila y carotenoides, está directamente asociada con la actividad fotosintética, la cual depende del estado nutricional y la etapa fenológica de la planta (Bielczynski *et al.*, 2017). Con base en los resultados obtenidos, podemos deducir que la respuesta del contenido de clorofilas y carotenoides está

condicionada por los DDR, que representan la edad o estadio vegetativo de la planta y sus estructuras morfológicas.

5. CONCLUSIONES

Las evaluaciones del contenido de clorofilas y carotenoides en *Lotus corniculatus* L. a diferentes DDR, permitió identificar que estos parámetros fisiológicos disminuyen conforme pasa el tiempo, lo que es atribuido al estadio vegetativo de la planta.

Es importante señalar, que entre los DDR de 77 a 91 días solo hay una diferencia de 14 días, que parecieran pocos, sin embargo, en las respuestas fisiológicas para la acumulación de clorofilas y carotenoides representan reducciones del más de 50 %.

6. LITERATURA CITADA

- Álvarez Vázquez, P. 2017. Evaluación agronómica de cinco genotipos de trébol pata de pájaro (*Lotus corniculatus* L).
- Belén Acosta, Técnica en jardinería y recursos naturales y paisajísticos. Actualizado: 15 abril 2020; <https://www.ecologiaverde.com/que-es-la-clorofila-y-sus-tipos-2579.html>.
- Bonifacio López, C. J. 2020. Contenido de pigmentos fotosintéticos según horas luz en *Polylepis incana* kunth.
- Cardona, T., Shao, S., and Nixon, P.J. 2018. Enhancing photosynthesis in plants: the light reactions. *Essays in biochemistry*, 62(1), 85-94.
- Carril, E. P. U. 2011. Fotosíntesis: aspectos básicos. *Reduca (Biología)*, 2(3).
- Castillo-Cabrera, Cristian, Sergio Iban Mendoza-Pedroza, José Alberto Salvador Escalante-Estrada, Gabino García-de los Santos, Arturo Pro-Martínez, y Fernando González-Cerón. 2023. Análisis De Crecimiento De trébol Pata De pájaro a Diferente Densidad De Siembra». *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas* 14 (2). México, ME:265-76. <https://doi.org/10.29312/remexca.v14i2.3420>.
- Catalina Tomás, Á. 2015. Utilización de medidas de fluorescencia de la clorofila para monitorizar el estado nutricional y estimar el potencial enológico en viñedos afectados por clorosis férrica.
- Diez Lázaro, J. 2008. Fitocorrección de suelos contaminados con metales pesados: evaluación de plantas tolerantes y optimización del proceso mediante prácticas agronómicas. Universidad Santiago de Compostela.
- Fortes, D., Herrera, R.S., González, S., García, M., Romero, A., and Cruz, A.M. 2009. Comportamiento de los pigmentos fotosintéticos, según la edad de rebrote después del pastoreo de *Pennisetum purpureum* vc. Cuba CT-115 en la estación poco lluviosa. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 43(2), 183-186.
- García-Gómez, C., Obrador, A., González, D., Babín, M., and Fernández, M.D. 2017. Comparative effect of ZnO NPs, ZnO bulk and ZnSO₄ in the antioxidant defences of two plant species growing in two agricultural soils under greenhouse conditions. *Science of the Total Environment*, 589, 11-24.

- García-López, J.I., Niño-Medina, G., Olivares-Sáenz, E., Lira-Saldivar, R.H., Barriga-Castro, E. D., Vázquez-Alvarado, R., and Zavala-García, F. 2019. Foliar application of zinc oxide nanoparticles and zinc sulfate boosts the content of bioactive compounds in habanero peppers. *Plants* 8 (8): 254.
- Guzmán, F.J.H., Rodríguez-Ortega, L.T., Velázquez-Martínez, M., Landa-Salgado, P., Rodríguez-Ortega, A., and Castellón-Montelongo, J. L. 2021. Influencia del tamaño de cariósipide y embrión en el desarrollo de plántulas de pastos. *Interciencia*, 46(7-8), 309-316.
- INIA. 2010. Lotus corniculatus como leguminosa forrajera perenne. <http://www.inia.org.uy/productos/cvforrajeras/lcorniculatuses.html>
- Jarma Orozco, A., Cardona Ayala, C., and Araméndiz Tatis, H. 2012. Efecto del cambio climático sobre la fisiología de las plantas cultivadas: una revisión. *Revista UDCA Actualidad y Divulgación Científica*, 15(1), 63-76.
- Kamble, P. N., Giri, S. P., Mane, R.S., and Tiwana, A. 2015. Estimation of chlorophyll content in young and adult leaves of some selected plants. *Universal journal of environmental research and technology*, 5(6), 306-310.
- Lagler, J. C. 2003. Lotus: un género que no acaba en dos especies. *Revista: Forrajes and Granos*, 62, 72-76.
- Larbi, A. 2002. Clorosis férrica: Respuestas de las plantas y métodos de corrección.
- Manrique Reol, E. (2003). Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz para la fotosíntesis: *Ecosistemas*, 12(1). Recuperado a partir de <https://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/250>.
- Manrique, E. 2003. Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz. *Ecosistemas* 2003/1 (URL: <http://www.aeet.org/ecosistemas/031/informe4.htm>)
- Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M., and Francisco, H. 2004. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 54(2), 149-155.
- Monza Galetti, J.E., Salamanca, P., and Herrera, M. A. 1991. Estudio de la producción de compuestos nitrogenados (Amidas y Ureidos) en *Lotus corniculatus*. *Boletín de Investigación*, 1991 (29): 7 p.

- Pacheco Burgos, J.C., and Rodríguez, K.T. 2020. Desarrollo de un prototipo para la medición de la clorofila de plantas expuestas a campos electromagnéticos para la aceleración de su desarrollo. Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad de Ingenierías, Ingeniería de Telecomunicaciones, Bogotá.
- Paniagua-Pardo, G., Hernández-Aguilar, C., Rico-Martínez, F., Domínguez-Pacheco, F.A., Martínez-Ortiz, E., and Martínez-González, C.L. 2015. Efecto de la luz led de alta intensidad sobre la germinación y el crecimiento de plántulas de brócoli (*Brassica oleracea* L.). *Polibotánica*, (40), 199-212.
- Partida, L., Díaz, T., Cortegaza, L., Zazueta, N. D., and Flores, L. L. C. 2022. Compilación sobre nutrimentos, sustancias donde se les encuentra y síntomas que ocasionan cuando su concentración disminuye en las plantas. *UCE Ciencia. Revista de postgrado*, 10(3).
- Pauleti M. 2018, Plan agropecuario, La producción de semillas de Lotus, recursos naturales. https://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R145/R_145_48.pdf
- Ramírez-Hernández, R. 2017. Producción de forraje de *Lotus corniculatus* L. En función de la intercepción luminosa y un corte fijo, Universidad Autónoma Chapingo.
- Rivera, C., Zapata, Á., Pinilla, G., Donato, J., Chaparro, B., and Jiménez, P. 2005. Comparación de la estimación de la clorofila-a mediante los métodos espectrofotométrico y fluorométrico. *Acta Biológica Colombiana*, 10(2), 95-103.
- Santacoloma Varón, L.E., Granados Moreno, J.E., and Aguirre Forero, S.E. 2015. Comportamiento agronómico, nutricional y contenido de taninos de la leguminosa *Lotus corniculatus* como efecto de la fertilidad del suelo. *Revista Ciencia Animal*, 1(9), 189-208.
- Santamaría, M.I.R., Cabrera, D.T., Santiago, A.I.L., Trejo, J.P., García, M.S., and Navarrete, A.M. 2023. Impacto del cambio climático sobre la fotosíntesis, fotorrespiración y respiración de plantas C3. *Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP*, 9 (Especial), 6-11.
- Zarza Fuentes, R. T. 2012. La importancia de la semilla propia como recurso forrajero para *Lotus corniculatus* L. en Uruguay. Tesis de Maestría, Universidad de la República (Uruguay). Facultad de Agronomía, 2012.