

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**EFFECTO DE DISTINTOS NIVELES DE INTENSIDAD LUMÍNICA SOBRE LA
RESPUESTA MORFOFISIOLÓGICA Y LA CONCENTRACIÓN DE
METABOLITOS SECUNDARIOS EN *PLANTAGO LANCEOLATA* L.**

POR

BASKA RENATA ANTONIA CONCHA ARAVENA

**MEMORIA PRESENTADO A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CONCEPCIÓN, CHILE
2024**

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**EFECTO DE DISTINTOS NIVELES DE INTENSIDAD LUMÍNICA SOBRE LA
RESPUESTA MORFOFISIOLÓGICA Y LA CONCENTRACIÓN DE
METABOLITOS SECUNDARIOS EN *PLATAGO LANCEOLATA L.***

POR

BASKA RENATA ANTONIA CONCHA ARAVENA

**MEMORIA PRESENTADO A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CONCEPCIÓN, CHILE
2024**

Aprobada por:

Profesora Asistente, Verónica Merino
Ing. Agrónoma, Dra.

Guía

Profesora Asociada, María Dolores López B.
Lic. en Química, Dra.

Asesor

Profesor Asistente, Miguel Garriga
Lic. en Biología, M. Sc., Dr.

Asesor

Profesor Asociado, Guillermo Wells
Ing. Agrónomo, M. Sc.

Decano

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
Resumen	1
Summary.....	2
Introducción.....	2
Materiales y Métodos.....	4
Resultados y Discusión	8
Conclusiones	14
Referencias	14

INDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1	Variables morfológicas y productivas en plantas de plantago cultivadas bajo tres niveles de intensidad lumínica (200, 300 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).....	10
Tabla 2	Parámetros de fluorescencia de la clorofila en hojas de plantago cultivado bajo tres niveles de intensidad lumínica (200, 300 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).....	12
Tabla 3	Concentración de carbohidratos solubles en agua (CSA) (mg de rafinosa g^{-1} MS) de plantago cultivado bajo tres niveles de intensidad lumínica (200, 300 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).....	12
Tabla 4	Concentración foliar de compuestos bioactivos (mg g^{-1} MS) de plantago cultivado bajo tres niveles de intensidad lumínica (200, 300 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).....	13

EFFECTO DE DISTINTOS NIVELES DE INTENSIDAD LUMÍNICA SOBRE LA RESPUESTA MORFOFISIOLÓGICA Y LA CONCENTRACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN *PLANTAGO LANCEOLATA* L.

EFFECT OF DIFFERENT LIGHT INTENSITY LEVELS ON THE MORPHOPHYSIOLOGICAL RESPONSE AND THE CONCENTRATION OF SECONDARY METABOLITES IN *PLANTAGO LANCEOLATA* L.

Palabras índice adicionales: Luz, fluorescencia de la clorofila, carbohidratos, eficiencia fotosintética, forraje.

RESUMEN

La incorporación de *Plantago lanceolata* L. en praderas ha aumentado debido a su mayor tolerancia al estrés hídrico y producción de materia seca en comparación con *Lolium perenne* L. *Plantago* reduce los gases de efecto invernadero al disminuir el nitrógeno (N) en la orina de los rumiantes, gracias a metabolitos como aucubina, catalpol y acteósido, cuya concentración varían con la luz. Sin embargo, hay escasa información sobre el efecto de la intensidad lumínica en variedades forrajeras. Esta investigación evaluó la respuesta productiva, química y morfofisiológica de *plantago* en función de tres niveles de intensidad lumínica (200, 300 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), utilizando un diseño completamente al azar. Las variables morfofisiológicas se midieron semanalmente, las productivas cada tres semanas, y las químicas al final del estudio. Aunque la intensidad lumínica afectó las variables fisiológicas, no tuvo impacto en las variables productivas, morfológicas ni químicas. Se observó diferencia en algunos parámetros de fluorescencia en el tratamiento de menor intensidad, pero en todos los tratamientos se mantuvieron dentro del rango óptimo, indicando que las plantas no sufrieron daño oxidativo. En conclusión, *plantago* demostró capacidad para regular la actividad fotosintética sin afectar su crecimiento ni composición química.

SUMMARY

The incorporation of *Plantago lanceolata* L. in pastures has increased due to its greater tolerance to water stress and dry matter production compared to *Lolium perenne* L. *Plantago* reduces greenhouse gases by reducing nitrogen (N) in ruminant urine, thanks to metabolites such as aucubin, catalpol and acteoside, whose concentration varies with light. However, there is little information on the effect of light intensity on forage varieties. This research evaluated the productive, chemical and morpho-physiological response of *plantago* as a function of three levels of light intensity (200, 300 and 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), using a split-plot design with replicates homogeneously distributed in them. Morphophysiological variables were measured weekly, productive variables every three weeks, and chemical variables at the end of the study. Although light intensity affected physiological variables, it had no impact on productive, morphological or chemical variables. Differences were observed in some fluorescence parameters in the lower intensity treatment, but in all treatments they remained within the optimal range, indicating that the plants did not suffer oxidative damage. In conclusion, *plantago* demonstrated the ability to regulate photosynthetic activity without affecting growth or chemical composition.

INTRODUCCIÓN

En los sistemas de producción bovina de leche y carne a pastoreo de zonas de clima templado y mediterráneo como Australia, Nueva Zelanda, América del Sur y Sudáfrica, se utiliza principalmente praderas de la especie ballica perenne (BP, *Lolium perenne* L.), sola o en mezcla con trébol blanco (*Trifolium repens* L.) (Waller y Sale, 2001), dado que poseen cualidades favorables en cuanto al rendimiento, calidad nutritiva y resistencia al pisoteo de los animales (Charlton y Stewart, 1999). Ballica perenne se adapta a regiones con pluviometrías de más de 550 mm anuales (Cunningham *et al.*, 1994), por eso, en Chile se establece sobre todo en las regiones de La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos, donde alrededor del 85 % del ganado bovino se destina a la producción lechera (INE, 2017). Una de las limitaciones de este tipo de praderas es la disminución en su rendimiento y valor nutritivo durante el período estival por su baja resistencia al estrés hídrico (Teuber y Dumont, 1996).

Plantago (*Plantago lanceolata* L.) ha cobrado un creciente interés por parte de los productores de leche y carne bovina, debido a su mayor tolerancia al estrés hídrico y producción de materia seca en periodo estival respecto de BP, (Lee *et al.*, 2015; Nguyen *et al.*, 2022). Se ha reportado un aumento de 1,8 t MS ha⁻¹ año⁻¹ en verano y de 0,9 t MS ha⁻¹ año⁻¹ en otoño con respecto a BP (Moorhead y Piggot, 2009).

Plantago es una especie herbácea perenne perteneciente a la familia Plantaginaceae, la cual posee una raíz pivotante que le permite un mayor almacenamiento de carbohidratos de reserva, que confieren cierta de tolerancia a la sequía (Cranston *et al.*, 2015). La producción anual de materia seca (MS) de praderas en base a plantago es en promedio de 17,6 t MS ha⁻¹ año⁻¹, mientras que en praderas de BP es de 14,4 t MS ha⁻¹ año⁻¹ (Moodheard y Piggot, 2009). Plantago tiene mayor valor nutricional respecto de BP, debido a que posee un mayor contenido de energía metabolizable (9,78 y 8,64 MJ kg⁻¹MS para plantago y BP, respectivamente) y de carbohidratos solubles en agua (8,20 % y 6,58 % de la MS para plantago y BP, respectivamente) (Mieche-Steir *et al.*, 2015; Navarrete *et al.*, 2022).

La incorporación de plantago en la dieta de vacas lecheras a pastoreo, disminuye la concentración de nitrógeno (N) en la orina de los animales, lo que contribuye a disminuir el impacto ambiental de la producción de leche bovina (Nguyen *et al.*, 2022). Sin embargo, el porcentaje de plantago en la pradera debe ser superior al 30 % de la MS para que se produzcan estos efectos (Navarrete *et al.*, 2022).

Se ha descrito que la reducción en el contenido de N en la orina de rumiantes a pastoreo de praderas que incluyen plantago, se debe a la presencia de tres compuestos bioactivos: aucubina, catalpol y acteósido (Navarrete *et al.*, 2016). Aucubina y catalpol son glucósidos iridoideas, mientras que acteósido, también llamado verbascoside es de los glucósidos feniletanoides (Tamura y Nishibe, 2002; Alipieva *et al.*, 2014). La concentración de los compuestos bioactivos en plantago varía por factores genéticos y ambientales como temperatura e intensidad lumínica (Tamura, 2001) y, en menor medida, de los niveles de fertilidad del suelo (Mieche-Steir *et al.*, 2015).

Tamura y Nishibe (2002) evaluaron los cambios estacionales durante la temporada de crecimiento en la concentración en hojas de catalpol, aucubina y acteósido en praderas de dos cultivares forrajeros de plantago ('lancelot' y 'ceres tonic'). Los autores encontraron que catalpol no mostró cambios estacionales en su concentración, mientras que la concentración de aucubina y acteósido presentaron un comportamiento estacional. La concentración de aucubina y acteósido aumentó paulatinamente desde mediados de primavera hasta otoño, mientras que en verano la concentración de aucubina se mantuvo constante y la de acteósido disminuyó gradualmente.

En el estudio realizado por Mieche-Steier *et al.* (2015) bajo condiciones de invernadero, donde se evaluó los efectos de 2 niveles de radiación fotosintéticamente activa (PAR), 35 y 175 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sobre la concentración de aucubina, catalpol y acteósido en brotes y raíces de cultivares silvestres de plantago, se obtuvo que las plantas que crecieron bajo condiciones de mayor luz tenían concentraciones más altas de aucubina (16 mg g^{-1} y 22 mg g^{-1} en brotes y raíces, respectivamente) y de acteósido (50 mg g^{-1} en brotes y raíces). Por el contrario, para las plantas que crecieron bajo condiciones de menor luz, las concentraciones disminuyeron en aucubina (5 mg g^{-1} y 3 mg g^{-1} en brotes y raíces, respectivamente) y acteósido (12 mg g^{-1} y 40 mg g^{-1} en brotes y raíces, respectivamente).

Pese a estos resultados, se requiere de más información para entender los mecanismos químicos y morfo-fisiológicos involucrados en la concentración de metabolitos secundarios en plantago en respuesta a la intensidad lumínica. Es por esto que, el objetivo general de este estudio fue evaluar el efecto de tres niveles de intensidades lumínicas (200, 300 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en la respuesta productiva y morfofisiológica, contenido de carbohidratos solubles en agua y concentración foliar de aucubina, catalpol y acteósido de *Plantago lanceolata* L.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo entre julio y octubre de 2023 en el Laboratorio de Producción Animal de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción

(36°50'06.18"S 73°01'52.31"O). Se utilizaron 3 cabinas de 120 x 90 cm revestidas por sus 4 lados con papel reflectante. Las condiciones ambientales de cada cabina fueron controladas manteniendo una temperatura promedio diaria de 22°C y una humedad ambiental promedio de 61%, mediante un equipo de aire acondicionado y un extractor de aire. Los datos de temperatura y humedad al interior de cada cabina se registraron diariamente mediante un sensor con registrador de datos thermochron (iButtons DS1923, Maxim Integrated Products Inc., EUA) ubicado a la altura de las plantas. Para establecer los niveles de intensidad lumínica al interior de cada cámara, se utilizaron 2 paneles de luces LED de 1000 W (30 cm x 50 cm, ECO LED-1000, ProGarden, China) con una densidad de flujo de fotones fotosintéticos de 150-170 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ por panel distribuidos de forma uniforme al interior de cada cabina. El espectro de luz constaba de 660 nm (68%), 460 nm (12%), luz blanca (14%), 730 nm (4%) y 410 nm (2%). Las horas luz fueron reguladas mediante un temporizador (Programmable time switch Sin Timer power saving, TM-615, MEC) programado para un fotoperíodo de 14 horas luz (desde las 07:00 hasta las 21:00 h) y 10 h de oscuridad.

Tratamiento y diseño experimental

El experimento se realizó con 3 tratamientos, bajo un diseño completamente al azar. Los tratamientos fueron 3 niveles de intensidad lumínica (200, 300 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), correspondientes a cada cabina de crecimiento controlado de plantas, con 8 repeticiones cada una, lo que dio como resultado 24 macetas. Las cabinas se organizaron con la distribución de macetas de modo de crear grupos homogéneos en cada una de ellas según el promedio del largo y ancho de lámina. Cada replica corresponde a una maceta con 4 plantas de *P. lanceolata* homogéneamente distribuidas, completando un total de 32 plantas por tratamiento y 96 plantas en total. La intensidad lumínica correspondiente a cada tratamiento se alcanzó ajustando la distancia entre el dosel de las plantas y los paneles de luces LED. Al inicio y mitad del periodo experimental, se midió la intensidad lumínica al interior de cada cabina mediante un sensor PAR (SQ-521, Apogee, Hansatech Instruments Ltda., EUA).

En mayo 2023, las macetas se distribuyeron entre los distintos tratamientos de

modo de crear grupos homogéneos según el promedio del largo y ancho de lámina.

Establecimiento

Semillas de plantago ('Ceres Tonic') se germinaron en placas Petri de 10 cm de diámetro. Transcurrida una semana, se trasplantaron las plántulas con radícula visible (5 a 20 mm de largo) a una bandeja almaciguera de 200 celdas, cada una de 5 cm de profundidad. Posteriormente, tras 4 semanas, se seleccionaron y trasplantaron 4 plantas a macetas plásticas cuadradas de 20 x 20 x 25 cm y 7 litros de capacidad. Las macetas se llenaron con 1,5 kg de sustrato, compuesto por la mezcla de 80% de turba (Kekkila Profesional), 10% perlita y 10% vermiculita.

Dada la diferencia de difusión de la radiación incidente al interior de cada cámara, las macetas fueron reposicionadas cada 4 días y giradas en 90°.

Riego y fertilización

Para establecer el manejo de riego de las macetas de cada tratamiento, se utilizó el método gravimétrico considerando un volumen en cada ocasión que permitiera llegar a capacidad de campo. Las plantas fueron fertilizadas cada 2 semanas, al momento del riego, con el fertilizante Plant Food Phostrogen (13% N, 10% P, 27% K).

Variables evaluadas

Composición morfológica y producción de materia seca de la biomasa aérea. Se midió semanalmente el largo y ancho de 1 hoja adulta sin indicios de senescencia en las 4 plantas por maceta. Cada 3 semanas se contabilizó el número de hojas inmaduras, hojas maduras no senescentes y tallos reproductivos. Posteriormente las plantas fueron cortadas a una altura de residuo de 5 cm de acuerdo con la metodología de Cranston *et al.* (2015) y Merino *et al.* (2024a,b). El forraje cosechado fue inmediatamente pesado en fresco, secado en un horno de ventilación forzada a 60 °C (modelo BOV-V125F, Biobase, China), por 24 horas o hasta lograr un peso constante, y nuevamente pesado en seco con una balanza analítica (modelo M213 Ai, BEL Engineering, Italia), para determinar la biomasa seca cosechada por maceta en cada corte.

Parámetros fisiológicos. Se midió semanalmente parámetros de fluorescencia de la clorofila con un fluorómetro de pulso modulado portátil (Modelo FMS2, Hansatech,

Inglaterra). Las mediciones se realizaron en el tercio medio de 1 hoja adulta, sin indicios de senescencia, de 4 plantas por maceta (32 lecturas por tratamiento, $n = 96$). Previa adaptación de las plantas a la oscuridad durante un período de 30 minutos se determinó: fluorescencia mínima en la oscuridad (F_o), fluorescencia máxima en la oscuridad (F_m) y la máxima eficiencia cuántica del fotosistema II (F_v/F_m).

Cuantificación de carbohidratos solubles en agua. En octubre de 2023 (6 meses después de la siembra), se cosecharon las plantas y se determinó producción de biomasa fresca y seca de acuerdo con la metodología descrita anteriormente.

La concentración de carbohidratos solubles en agua (CSA) se determinó mediante un método colorimétrico de ácido fenol-sulfúrico siguiendo el protocolo descrito en Lee *et al.* (2015). Para ello se tomaron muestras compuestas de 25 mg del forraje seco cosechado durante el período, incluyendo el material recolectado en la cosecha final. El material fue previamente homogeneizado y pulverizado a 1 mm con un molinillo de forraje. Posteriormente se diluyeron con 1 mL de etanol al 80% y 1 mL de agua destilada en un tubo plástico de 15 mL. Los CSA se clasificaron en bajo y alto peso molecular. La fracción de etanol contiene CSA de bajo peso molecular (bajo PM), como glucosa, fructosa, sacarosa y fructanos con un bajo grado de polimerización, mientras que la fracción de agua contiene CSA de alto peso molecular (alto PM), como fructanos con alto grado de polimerización. Se utilizó rafinosa penta-hidratada ($\geq 99\%$ de pureza, CAS 17629-30-0, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA) como patrón de calibración, considerando que es la principal reserva de CSA en plantago (Janeček *et al.*, 2011). La absorbancia se midió a 490 nm usando un lector de microplacas Synergy H1M (BioTek SH1MF, Santa Clara, C.A., EUA), y los resultados se expresaron como miligramos de rafinosa por gramos de materia seca (mg g^{-1} MS).

Contenido de metabolitos secundarios. Previo a la cosecha destructiva, se cortó 1 hoja adulta de 1 planta, sin indicios de senescencia, por maceta (6 hojas por tratamiento aleatoriamente seleccionadas, 18 muestras en total). La determinación del contenido de aucubina, catalpol y acteósido se realizó según lo descrito por Navarrete *et al.* (2016). Para ello, se tomó una alícuota de 100 mg de muestra para

la extracción de metabolitos. Se identificaron y cuantificaron mediante cromatografía utilizando un cromatógrafo Hitachi primario HPLC-DAD equipado con un detector de matriz de diodos (Hitachi technologies, Merck, Darmstadt, Alemania). El sistema cromatográfico estaba equipado con una columna Kromasil C18 (250 × 4,6 mm, tamaño de partícula 5 µm) (Nouryon AB., Gotemburgo, Suecia) para separar los metabolitos. Los cromatogramas se registraron a 240 nm para la cuantificación de aucubina-catalpol y a 330 nm para acteósido. Se utilizaron estándares de grado analítico para cuantificar la concentración de aucubina y catalpol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) y de acteósido (ChromaDex, Inc, Irvine, EUA). Los resultados se expresaron como miligramos de cada metabolito por gramo de materia seca (mg 100 g⁻¹ MS).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron procesados mediante el análisis de varianza (ANDEVA) previa comprobación de los supuestos de distribución normal y homogeneidad de varianza, considerando la intensidad lumínica como efecto fijo con respecto a las variables evaluadas.

Las diferencias entre las medias de los tratamientos fueron sometidas a una prueba de Tukey con un nivel de confianza de 95%, cuando los resultados del ANDEVA fueron significativos (valor P < 0,05). Los análisis se realizaron utilizando InfoStat Profesional (versión 2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición morfológica y producción de biomasa aérea

La intensidad lumínica no afectó la producción de materia seca del forraje cosechado en cada corte ni la biomasa seca total durante el período de cultivo, con un promedio entre los tratamientos de 12,16 g maceta⁻¹ y 36,49 g maceta⁻¹, respectivamente (Tabla 1). Estos resultados se contraponen a los reportados por Miede-Steier *et al.* (2015), quienes compararon la producción de biomasa seca total (aérea y de raíces) de ecotipos silvestres de plantago que crecieron bajo 175 y 35 µmol m⁻² s⁻¹. Los autores encontraron que la biomasa seca total de plantas de plantago cultivadas con mayor intensidad lumínica era 8,5 veces mayor que

aquellas que crecieron en condiciones de baja intensidad lumínica. Similar respuesta se obtuvo en un estudio bajo condiciones climáticas controladas, donde se evaluó el rendimiento de leguminosas anuales de tipo arbustivo erecto a distintos niveles de intensidad lumínica, se reportó que todas las especies aumentaron un 73% a $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en comparación con $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Baligar *et al.*, 2006).

Los tratamientos de intensidad lumínica no afectaron el largo (20,11 cm) ni el ancho (2,32 cm) de las hojas (Tabla 1). Estos resultados se oponen a los reportados por Lambers y Posthumus (1980), quienes encontraron que plantas de plantago en condiciones de baja intensidad lumínica ($46 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), redujeron en un 60% la tasa de crecimientos de los brotes en comparación a la intensidad de $276 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Similar respuesta se encontró en un estudio de laboratorio donde se evaluó el efecto de la intensidad de la luz en el crecimiento y desarrollo de *Lactuca sativa*, donde la longitud de la hoja fue 1,16 veces mayor en el tratamiento de $290 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en comparación con el tratamiento de $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Kang *et al.*, 2013).

La composición morfológica de la materia seca aérea total (% MST), no se vio afectada por las diferentes intensidades lumínicas, con valores promedio entre los tratamientos, de 54,32% de hojas, 43,22% de tallos y 2,45% de material muerto (Tabla 1). Lo mismo ocurrió en el número total de hojas inmaduras y maduras por planta, con promedios de 3 y 13 hojas planta⁻¹, respectivamente (Tabla 1). Los resultados del presente estudio se contraponen con lo observado por en un estudio de campo por Arboleda (2011), donde el número total de hojas de *Aptenia cordifolia* fue 1,29 veces mayor a $1.246 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ comparado con aquellas que crecieron a $112 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

La ausencia de diferencia en las variables morfológicas y en la producción de biomasa aérea del presente estudio pudo deberse a la poca diferencia entre los niveles de intensidad lumínica de los tratamientos evaluados. Considerando que la intensidad lumínica influye en la morfología de las plantas por su efecto sobre la capacidad fotosintética, pero estas respuestas varían según la especie y el estado fisiológico de la planta (Rizzo, 2020), es posible suponer que niveles más contrastantes de intensidad lumínica en comparación con los utilizados en este estudio, podrían afectar la morfología y composición de la biomasa en plantago. Los

resultados obtenidos demuestran que la planta es capaz de mantener su producción de biomasa aérea, en condiciones donde exista variabilidad en bajas intensidades lumínicas, por ejemplo, en sistemas silvopastoriles (Ramírez *et al.*, 2020).

Tabla 1. Variables morfológicas y productivas en plantas de plantago cultivadas bajo tres niveles de intensidad lumínica (200, 300 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Variables¹	200	300	400
Producción de MS por corte (g MS maceta ⁻¹)	11,58 ± 1,87 ^a	12,90 ± 2,76 ^a	12,01 ± 1,09 ^a
Producción de MS acumulada (g MS maceta ⁻¹)	34,74 ± 5,60 ^a	38,69 ± 8,28 ^a	36,74 ± 3,27 ^a
Largo (cm)	19,95 ± 1,74 ^a	20,09 ± 1,30 ^a	20,29 ± 2,46 ^a
Ancho (cm)	2,34 ± 0,38 ^a	2,26 ± 0,29 ^a	2,36 ± 0,26 ^a
Porcentaje de biomasa seca de hojas (% MST)	58,53 ± 10,06 ^a	54,92 ± 7,16 ^a	49,53 ± 7,90 ^a
Porcentaje de biomasa seca de tallos (% MST)	39,56 ± 9,61 ^a	42,75 ± 7,29 ^a	47,36 ± 7,92 ^a
Porcentaje de biomasa seca de materia muerta (% MST)	1,91 ± 0,98 ^a	2,33 ± 0,63 ^a	3,11 ± 1,24 ^a
Número hojas inmaduras por planta	4 ± 1,28 ^a	3 ± 0,91 ^a	3 ± 0,87 ^a
Número hojas maduras por planta	15 ± 0,64 ^a	14 ± 3,03 ^a	12,01 ± 3,91 ^a

¹ MS: materia seca. % MST: porcentaje en la materia seca total. El subíndice ^a indica igualdad entre los tratamientos ($P > 0,05$). Numero de repeticiones: 8.

Parámetros de fluorescencia de la clorofila para hoja inmadura y madura

Los parámetros de fluorescencia basal de la clorofila fueron afectados por la intensidad lumínica, encontrándose los valores superiores en el tratamiento de 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Tabla 2). La F_0 en el tratamiento de 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fue 1,063 veces

mayor que en $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, mientras que $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ presentó valores similares a los otros dos tratamientos (Tabla 2). La Fm en el tratamiento de $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fue, en promedio, 1,08 veces superior respecto a los otros dos tratamientos (Tabla 2). La Fv/Fm mostro una tendencia similar, en el tratamiento de $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fue 1,012 veces mayor que en $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, mientras que en $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no se diferenció de los otros tratamientos (Tabla 2).

Con respecto a la Fo, el aumento de 7,35 unidades a $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ se contrapone con el estudio de Hazrati *et al.* (2016) en *Aloe barbadensis* sometida a tres niveles de intensidades de luz (50%, 70% y 100% de luz solar) correspondientes a promedios aproximados de la época de otoño de 220, 300 y $450 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, donde se reportó que la alta intensidad lumínica (100% luz solar) aumentó la Fo 1,18 veces en comparación con la más baja intensidad lumínica (50% luz solar). El aumento en el valor de Fo, que se utiliza como un indicador de estrés (Maxwell y Johnson, 2000), se debe a un daño oxidativo y pérdida de los centros de reacción del PSII (Baker, 2008). Dado que las intensidades de luz estudiadas son relativamente bajas no se generaron excesos de energía que puedan generar estrés oxidativo.

Las respuestas y valores del rendimiento fotoquímico del fotosistema II (PSII) del presente estudio concuerdan con los reportados por Kang *et al.* (2013), donde se obtuvieron valores superiores a 0,8 en intensidades bajas de 200, 230 y $260 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Similar respuesta en la relación Fv/Fm y en la Fm fueron reportadas en el estudio anterior de Hazrati *et al.* (2016). Se obtuvo que la relación Fv/Fm fue 1,10 veces mayor en intensidades de 50% luz solar en comparación a intensidades de 100% luz solar. Los valores más altos de Fm se encontraron en condiciones de 50 % de luz solar, 1,09 veces mayor que en 100% de luz solar. La relación Fv/Fm es un indicador de la eficiencia cuántica máxima del PSII (Baker, 2008). En el presente estudio, a pesar de que las plantas que crecieron bajo condiciones de $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ mostraron una mayor eficiencia del PSII, todos los tratamientos presentaron valores dentro del rango típico para plantas no estresadas, entre 0,80 a 0,84, lo que indica un funcionamiento óptimo del PSII (Baker, 2008; Gemel *et al.*, 1997; Björkman y Demmig, 1987).

Tabla 2. Parámetros de fluorescencia de la clorofila en hojas de plantago cultivado bajo tres niveles de intensidad lumínica (200, 300 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Parámetros ¹	200	300	400
Fo	123,89 \pm 3,95 ^a	116,54 \pm 4,92 ^b	120,96 \pm 13,20 ^{ab}
Fm	789,91 \pm 40,32 ^a	724,88 \pm 29,97 ^b	736,74 \pm 17,36 ^b
Fv/Fm	0,8431 \pm 0,01 ^a	0,8392 \pm 0,01 ^{ab}	0,8358 \pm 0,01 ^b

¹ Fo: fluorescencia mínima en la oscuridad. Fm: fluorescencia máxima en la oscuridad. Fv/Fm: máxima eficiencia cuántica del fotoquímica del fotosistema II. Los subíndices ^{a, b} indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$). Numero de repeticiones: 8.

Composición química de la biomasa aérea

En línea con los resultados anteriores de composición morfológica y producción de materia seca, la concentración de los metabolitos evaluados tampoco fue afectada por las distintas intensidades lumínicas utilizadas.

Las distintas intensidades lumínicas no afectaron el contenido de CSA, se obtuvieron valores de CSA de bajo PM y alto PM de 45,45 y 26,54 mg de rafinosa g^{-1} MS, respectivamente (Tabla 3). Estos resultados difieren con lo reportado en Jiang *et al.* (2005) donde se evaluó en condiciones de campo el efecto de dos tratamientos de intensidad lumínica: Luz alta (500-900 $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y luz baja (60-100 $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), sobre el contenido de CSA en *Paspalum vaginatum* 'Sea Isle 1' y el híbrido *Cynodon dactylon L. x Cynodon transvaalensis* 'TifSport'. Se reportó que el nivel de CSA disminuyó bajo condiciones de luz baja para ambas especies (52% y 66% para Sea Isle 1 y TifSport, respectivamente).

Tabla 3. Concentración de carbohidratos solubles en agua (CSA) (mg de rafinosa g^{-1} MS) de plantago cultivado bajo tres niveles de intensidad lumínica (200, 300 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

	200	300	400
CSA bajo PM ¹	37,95 \pm 11,85 ^a	48,87 \pm 13,42 ^a	49,53 \pm 19,01 ^a
CSA alto PM	30,57 \pm 7,63 ^a	20,20 \pm 4,99 ^a	28,85 \pm 15,57 ^a

¹ PM: peso molecular. El subíndice ^a indica igualdad entre los tratamientos ($P > 0,05$). Numero de repeticiones: 6.

Tabla 4: Concentración foliar de compuestos bioactivos (mg g^{-1} MS) de plantago cultivado bajo tres niveles de intensidad lumínica (200, 300 y $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Compuestos	200	300	400
Aucubina	$264,25 \pm 180,85^a$	$345,97 \pm 51,55^a$	$364,16 \pm 339,71^a$
Catalpol	$333,62 \pm 216,12^a$	$132,06 \pm 73,66^a$	$225,60 \pm 184,98^a$
Acteósido	$486,66 \pm 332,21^a$	$600,95 \pm 111,74^a$	$809,46 \pm 446,31^a$

El subíndice ^a indica igualdad entre los tratamientos ($P > 0,05$). Numero de repeticiones: 6.

La intensidad lumínica no afectó el contenido de metabolitos secundarios en hojas de plantago. Se obtuvieron valores promedio para aucubina, catalpol y acteósido de 9,70, 9,28, 13,20 mg g^{-1} MS, respectivamente (Tabla 3). Este resultado se contrapone con lo reportado en el estudio de Mieke-Steier *et al.* (2015), donde los metabolitos aucubina, catalpol y acteósido se encontraron en mayor concentración en plantas cultivadas en condiciones de mayor intensidad lumínica ($175 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

En general, este estudio indica que no hubo efecto de la intensidad lumínica, en los distintos niveles de intensidad lumínicas utilizados, sobre los rasgos evaluados; aunque sí se observaron diferencias en la eficiencia fotosintética máxima (F_v/F_m), esta se mantuvo dentro del rango óptimo. Este hecho da cuenta de la plasticidad de plantago previamente descrita por Miszalski *et al.* (2023).

Desde el punto de vista ecológico, la capacidad que tiene la planta de ajustarse a condiciones lumínicas variables podría otorgar una ventaja competitiva a plantago en entornos donde deba competir por la luz bajo un dosel vegetal. Esta plasticidad le permitiría persistir en diversos ambientes productivos, principalmente en los orientados a realizar manejos silvopastoriles, donde las plantas se verán sometidas a una disminución de la intensidad lumínica. No obstante, aunque los resultados obtenidos en condiciones de laboratorio son prometedores, es esencial llevar a cabo estudios de campo para verificar si estas capacidades de aclimatación se mantienen en condiciones más variables y complejas. Las pruebas en entornos reales ayudarán a consolidar el conocimiento acerca de su uso práctico, asegurando su

éxito en sistemas de producción agrícola y pastoril bajo diferentes escenarios de manejo y condición lumínica.

CONCLUSIONES

La repuesta productiva, composición morfológica y química de plantago no se vio influenciada por intensidades lumínicas de 200, 300 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Esto se atribuye a que la capacidad fotosintética se mantuvo en óptimas condiciones para todas las plantas. El análisis de fluorescencia de clorofila reveló que las plantas cultivadas en condiciones de menor intensidad lumínica tuvieron mayor eficiencia fotosintética, sin embargo, en todos los tratamientos se obtuvieron valores de la máxima eficiencia cuántica del PSII dentro del rango óptimo para plantas no estresadas.

Se concluye que, con condiciones ambientales controladas, el rango del nivel de intensidad lumínica entre 200 y 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ es adecuado para conseguir un desarrollo sin estrés lumínico para plantas de plantago. Este estudio aporta al conocimiento sobre las condiciones lumínicas favorables para el establecimiento y desarrollo de plantago, con un enfoque en cultivares forrajeros actualmente en evaluación.

REFERENCIAS

1. Alipieva, K., L. Korkina, I. E. Orhan and M. I. Georgiev. 2014. Verbascoside—A review of its occurrence, (bio) synthesis and pharmacological significance. *Biotechnology advances*. 32 (6): 1065-1076.
2. Arboleda, M. E. 2011. Effect of irradiance on the growth and development of *Aptenia cordifolia* (Lf) Schwantes as ornamental cover. *Bioagro*. 23 (3): 175-184.
3. Baker, N. R. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59 (1): 89-113.
4. Baligar, V. C., N. K. Fageria, A. Q. Paiva, A. Silveira, A. W. V. Pomella and R. C. R. Machado. 2006. Light intensity effects on growth and micronutrient uptake by tropical legume cover crops. *Journal of plant nutrition*. 29 (11): 1959-1974.
5. Björkman, O. and B. Demmig. 1987. Photon yield of O₂ evolution and

- chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta*. 170: 489-504.
6. Charlton, J. F. L. and A. V. Stewart. 1999. Pasture species and cultivars used in New Zealand-a list. In *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* (pp. 147-166).
 7. Cranston, L. M., P. R. Kenyon, S. T. Morris, S. T., N. Lopez-Villalobos and P. D. Kemp. 2016. Morphological and physiological responses of plantain (*Plantago lanceolata*) and chicory (*Cichorium intybus*) to water stress and defoliation frequency. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 202 (1): 13-24.
 8. Cunningham, P. J., M. J. Blumenthal, M. W. Anderson, K. S. Prakash and A. Leonforte. 1994. Perennial ryegrass improvement in Australia. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 37 (3): 295-310.
 9. Gemel, J., B. Waters-Earhart, M. R. Ellersieck, A. Asfaw, G. F. Krause, V. Puri and W. R. Lower. 1997. Photosynthetic electron transport as a bioassay. In *Plants for environmental studies* (p. 563). Boca Raton: CRC Press.
 10. Hazrati, S., Z. Tahmasebi-Sarvestani, S. A. M. Modarres-Sanavy, A. Mokhtassi-Bidgoli and S. Nicola. 2016. Effects of water stress and light intensity on chlorophyll fluorescence parameters and pigments of *Aloe vera* L. *Plant Physiology and Biochemistry*. 106: 141-148.
 11. Janeček, Š., V. Lanta, J. Klimešová, and J. Doležal. 2011. Effect of abandonment and plant classification on carbohydrate reserves of meadow plants. *Plant biology*. 13 (2): 243-251.
 12. Jiang, Y., R. N. Carrow and R. R. Duncan. 2005. Physiological acclimation of seashore paspalum and bermudagrass to low light. *Scientia horticultrae*. 105 (1): 101-115.
 13. Kang, J. H., S. KrishnaKumar, S. L. S. Atulba, B. R. Jeong and S. J. Hwang. 2013. Light intensity and photoperiod influence the growth and development of hydroponically grown leaf lettuce in a closed-type plant factory system. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*. 54: 501-509.
 14. Lambers, H. and F. Posthumus. 1980. The effect of light intensity and relative humidity on growth rate and root respiration of *Plantago lanceolata* and *Zea mays*. *Journal of Experimental Botany*. 31 (6): 1621-1630.

15. Lee, J. M., N. R. Hemmingson, E. M. Minnee and C. E. Clark. 2015. Management strategies for chicory (*Cichorium intybus*) and plantain (*Plantago lanceolata*): impact on dry matter yield, nutritive characteristics and plant density. *Crop and Pasture Science*. 66 (2): 168-183.
16. Lee, J. M., E. M. Minnee and C. E. Clark. 2015. Patterns in non-structural carbohydrate and nitrogen reserves in chicory (*Cichorium intybus* L.) and plantain (*Plantago lanceolata* L.) during regrowth in summer. *Crop and Pasture Science*. 66 (10): 1071-1078.
17. Maxwell, K. and G. N. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of experimental botany*. 51 (345): 659-668.
18. Merino, V. M., R. Aguilar, L. F. Piña, M. Garriga, E. Ostría-Gallardo, M. D. López and M. J. Rivero. 2024. Regrowth dynamics and morpho-physiological characteristics of *Plantago lanceolata* under different defoliation frequencies and intensities. *PloS one*. 19 (9): e0310009.
19. Merino, V. M., R. I. Aguilar, M. J. Rivero, I. P. Ordóñez, L. F. Piña, M. D. López-Belchí, M. I. Schoebitz, F. A. Noriega, C. I. Pérez, A. S. Cooke and L. M. Guedes. 2024. Distribution of Non-Structural Carbohydrates and Root Structure of *Plantago lanceolata* L. under Different Defoliation Frequencies and Intensities. *Plants*. 13 (19): 2773.
20. Miede-Steier, A., C. Roscher, M. Reichelt, J. Gershenzon and S. B. Unsicker. 2015. Light and nutrient dependent responses in secondary metabolites of *Plantago lanceolata* offspring are due to phenotypic plasticity in experimental grasslands. *PLoS One*. 10 (9): e0136073.
21. Miszalski, Z., P. Kaszycki, M. Śliwa-Cebula, A. Kaczmarczyk, M. Gieniec, P. Supel and A. Kornaś. 2023. Plasticity of *Plantago lanceolata* L. in Adaptation to Extreme Environmental Conditions. *International Journal of Molecular Sciences*. 24 (17): 13605.
22. Moorhead, A. J. E. and G. J. Piggot. 2009. The performance of pasture mixes containing 'Ceres Tonic' plantain (*Plantago lanceolata*) in Northland. In *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* (pp. 195-199).
23. Navarrete, S., P. D. Kemp, S. J. Pain and P. J. Back. 2016. Bioactive compounds, aucubin and acteoside, in plantain (*Plantago lanceolata* L.) and their effect on *in vitro* rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*. 222: 158-167.

24. Navarrete, S., M. Rodriguez, D. Horne, J. Hanly, M. Hedley and P. Kemp. 2022. Nitrogen excretion by dairy cows grazing plantain (*Plantago lanceolata*) based pastures during the lactating season. *Animals*. 12 (4): 469.
25. Nguyen, T. T., S. Navarrete, D. J. Horne, D. J. Donaghy and P. D. Kemp. 2022. Forage plantain (*Plantago lanceolata* L.): Meta-analysis quantifying the decrease in nitrogen excretion, the increase in milk production, and the changes in milk composition of dairy cows grazing pastures containing plantain. *Animal Feed Science and Technology*. 285: 115244.
26. Ramírez-Contreras, R., A. Lara-Bueno, M. Uribe-Gómez, A. Cruz-León, D. A. Rodríguez-Trejo and G. M. Valencia Trejo. 2020. Foraging behavior of the herbaceous stratum at different tree densities in lowland deciduous forest. *Mexican Journal of Agricultural Sciences*. 11 (4): 881-893.
27. Rizzo, S. V. 2020. Effect of different types of light on plant growth in vitro: Literature review.
28. Tamura f. 2001. Effects of temperature on the accumulation of functional ingredients in the plantago herb (*Plantago lanceolata* L.). Effects of light intensity and nitrogen fertilization. 70 (4): 548-553.
29. Tamura, Y. and S. Nishibe. 2002. Changes in the concentrations of bioactive compounds in plantain leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50 (9): 2514-2518.
30. Teuber, N. and J. C. Dumont. 1996. Pasture attributes for dairy herd feeding. F. Lanuza and G. Bortolameolli. *Serie Remehue*. (64): 3-21.
31. Waller, R. A. and P. W. G. Sale. 2001. Persistence and productivity of perennial ryegrass in sheep pastures in south-western Victoria: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 41 (1): 117-144.