

544



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

" PRESENCIA DE GRUPOS DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN CINCO ESPECIES DE DIFERENTES FAMILIAS DE LA SELVA ALTA PERENNIFOLIA DE LOS TUXTLAS VERACRUZ.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A :
GABRIELA FERNANDEZ SAAVEDRA

MEXICO, D. F.

1991

FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Indice

Introducción.	2
.....	3
.....	4
.....	5
Antecedentes.	6
.....	7
.....	8
.....	9
.....	10
Antecedentes fitoquímicos por géneros.	
Género <u>Brosimum</u>	11
Género <u>Chamaedora</u>	12
Género <u>Cymbopetalum</u>	12
Género <u>Diospyros</u>	12
Género <u>Rhedia</u>	12
.....	13
.....	14
Area de Colecta	15
.....	16
.....	17
Material y Método	18
.....	19
.....	20

.....	21
Resultados y discusión	22
Tabla de Rendimientos	23
Tablas de contenido de:	
Alcaloides	24
.....	36
.....	37
.....	25
Terpenos-esteroides	24.
.....	25
.....	31
Flavonoides	26
.....	27
.....	32
.....	33
Glicósidos	28
Metabolitos presentes en diferentes etapas de desarrollo	
<u>Brosimum alicastrum</u>	38
<u>Chamaedora tepejilote</u>	39
<u>Cymbopetalum baillonii</u>	40
<u>Diospyros digyna</u>	41
<u>Rheedia edulis</u>	42
Perfiles cromatográficos	44
.....	45

.....	46
Conclusiones	47
.....	48
Bibliografía	49
.....	
.....	51
.....	52
.....	53
Apéndice	55.

Introducción.

Grande es la información reportada sobre la estructura de metabolitos secundarios aislados de plantas, cuyos objetivos obedecen a diversos propósitos.

La mayoría de los estudios fitoquímicos se realizan en un órgano particular de la planta tratando de encontrar, aislar, purificar, y determinar compuestos de interés especial; menos conocidos son los estudios que se realizan en los diversos órganos de la planta para correlacionar su biosíntesis y distribución.

Aunque hay una gran cantidad de especies (la mayoría de los árboles tropicales) que como una estrategia de vida, permanecen como plántulas semilantes, ó plantas jóvenes durante un tiempo variable, poco se reporta sobre el papel de los metabolitos secundarios en el estado de plántula y menos aún sobre las diferentes etapas del ciclo de vida en las que por primera vez se producen éstos metabolitos.

Observaciones realizadas en el campo sobre Diospyros digyna (zapote negro) y Rheedia edulis (limonillo) en estado de plántula muestran ninguna ó muy poca depredación, lo que hace interesante el estudio de éste tipo de plantas; por la probable existencia de metabolitos secundarios con un papel defensivo al ataque de herbívoros y la producción en ésta fase de tales metabolitos.

Es por esto, que en el Laboratorio de Química de la Facultad de Ciencias de la U. N. A. M. se inicia con este trabajo un sondeo sistemático de grupos de metabolitos secundarios en varias especies de árboles tropicales de la zona de los Tuxtlas, para analizar su distribución y obtener un aporte de datos que conduzcan al diseño de otros estudios.

Objetivo General:

Hacer un estudio fitoquímico preliminar de grupos de metabolitos secundarios y perfiles cromatográficos de semillas, plántulas, plantas jóvenes y plantas adultas de las cinco especies vegetales siguientes:

- 1.- Brosimum alicastrum.
- 2.- Chamaedora tepeilote.
- 3.- Cymbopetalum baillonii.
- 4.- Diospyros digyna.
- 5.- Rheedia edulis.

para determinar si alguno ó algun tipo de éstos metabolitos se encuentran exclusivamente en la etapa de plántula.

Objetivos Particulares:

1.- Extraer selectivamente los metabolitos secundarios, por medio de hexano y metanol en cuatro diferentes etapas de desarrollo de la planta (semilla, plántula, planta joven, y planta adulto).

2.-Evidenciar la presencia en éstas etapas de : alcaloides, flavonoides, glicósidos, saponinas y terpenos-esteroides mediante reacciones coloridas y de precipitación.

3.- Determinar el perfil cromatográfico de los extractos en placa delgada de gel de sílice.

4.- Establecer las relaciones que pudiesen existir entre los grupos de metabolitos secundarios y la etapa de desarrollo correspondiente, mediante un análisis comparativo.

Antecedentes.

El reino vegetal contiene una extraordinaria diversidad de metabolitos desconocidos, de bajo peso molecular, a la mayoría de los cuales no se les ha definido su participación en los procesos metabólicos de las plantas. Rosenthal & Janzen (1979) les llamaron a éstos compuestos Metabolitos Secundarios (M.S.). En un principio se pensó que los M. S. eran un producto de desecho sin embargo se descubrió que algunos de ellos se sintetizaban de manera activa y que en otros casos estaban involucrados en actividades definidas, como la protección de rayos ultravioleta (Roades, 1979) por lo que su papel como substancias de desecho fué muy discutido.

Los metabolitos secundarios se sintetizan en las plantas (Gibbs, 1974; Hegnauer, 1962-73); aunque se encuentran también en hongos, bacterias, animales sésiles, artrópodos (De Ley, 1975; Shauer, 1973; Erickson, 1974) y unos pocos en cordados.

Algunos investigadores sugieren que los compuestos secundarios aislados de las plantas ascienden a 10,000 y a medida que se avance en la investigación fitoquímica, se encontrarán otros, calculando que su número sea similar al de especies conocidas, es decir unos 400,000 (Oyama, 1986).

Como la diversidad y distribución de los metabolitos secundarios es variable, sus funciones atribuibles también lo son, por ejemplo, se sabe que algunas plantas elaboran

metabolitos secundarios que reprimen ó evitan el crecimiento de semillas ó plántulas de especies cercanas, al elaborar diversos exudados que contienen fitotoxinas.

La variedad de colores y aroma de las plantas se debe a diversas formas de compuestos de ésta naturaleza, M.S. cuya función reside en posibilitar la polinización.

Hay también sustancias de estructura similar a la de las hormonas, que afectan el desarrollo de los insectos (Williams, 1970).

De observaciones y hechos aislados se ha fundamentado la hipótesis de que los metabolitos secundarios funcionan como defensas químicas, y algunos datos son los siguientes:

- Se sabe que las paredes celulares de las plantas son defensas importantes contra microorganismos parásitos (Albersheim, 1975; Pridham, 1974); hasta se ha sugerido que la composición de la pared es la que determina el tipo de parásito.

- Recientemente se ha demostrado que los polisacáridos de muchas paredes celulares están aciladas con ácidos hidroxiaromáticos, principalmente ácido ferúlico y que la acilación se incrementa cuando la planta está infectada (Frend et al. 1977; Hartley, 1973-74).

Ambas observaciones conducen a creer que existen mecanismos naturales para defenderse y "evitar" la herbivoría y los metabolitos secundarios implicados están catalogados como

"defensas químicas".

La acumulación de taninos, glicósidos, y alcaloides en las plantas provocan efectos fisiológicamente negativos en diferentes herbívoros lo que impide que éstos los ataquen, funcionando entonces como mecanismos de defensa que en último término promueven la especificidad en la herbivoría.

En la literatura se encuentran fácilmente datos acerca de los metabolitos secundarios con la interpretación que les fué otorgada en el momento, por quienes los estudiaron.

Así los metabolitos secundarios son el núcleo de diversas interpretaciones como las siguientes:

Sobre el origen de los metabolitos secundarios, Wittaker & Feeny (1971) llegaron a la conclusión de que los metabolitos implicados en la defensa química, se originaron en el pasado por el fenómeno de mutación y que su permanencia fué favorecida al incorporarse la información al genoma de la planta.

Janzen & Martin (1981) consideran que los M. S. presentes en las plantas son una reminiscencia del pasado, es decir que éstos compuestos fueron una defensa química en épocas geológicas pasadas, para evitar depredadores específicos que desaparecieron en el largo proceso evolutivo, quedando sólo los metabolitos secundarios en las plantas, a ésta teoría se le llamó de la "Adaptación Fósil".

Los enunciados anteriores tienen clara tendencia

pero pueden proveer de mayor protección contra generalistas.

4) Las sustancias reductoras de la digestibilidad, protegen contra todo tipo de herbívoros.

Sin embargo existe otro grupo de científicos que consideran erróneo darle a todo carácter de un individuo (en éste caso a los M.S. de las plantas) un valor adaptativo pues lo consideran Panglossiano, por lo que argumentan explicaciones alternativas como las siguientes:

1) Los esteroides de las plantas tienen un papel importante en la estructura de las membranas (Grunwald, 1975).

2) Los flavonoides son muy importantes ya que atraen a los polinizadores (Brehm, 1975).

3) Los flavonoides regulan la mediación del metabolismo de la fosforilación (Koeppel, 1974; McClure, 1975).

Como se puede apreciar en los enunciados anteriores, se encontraron funciones definidas a los metabolitos secundarios y no necesariamente de defensa, por tanto, no todos los M. S. de una planta se les debe atribuir una razón adaptativa (defensa) ya que existen explicaciones alternativas.

Así es como Gould S. & R. Lewontin (1970) han declarado que: "Existe un defecto en tener un punto de vista adaptacionista, ya que no todos los caracteres de una planta son adaptaciones. El buscar un sentido adaptacionista a todas las características de un individuo resulta inadecuado y erróneo ya que conduce a explicaciones dudosas".

Antecedentes fitoquímicos de las especies estudiadas.

Dentro de los estudios fitoquímicos realizados en los géneros aquí estudiados, se tienen los siguientes datos:

Género Brosimum.

Magalhaes & Gottlieb (1971 y 1972) realizaron un análisis químico de Brosimum rubescens, una Morácea de Brasil, al finalizar su trabajo encontraron los siguientes compuestos: Xantiletina I y II Brosiprenina, 7-hidroxicumarina-7-dimetilsuberosina y 7,8 dihidroxicumarina-brosiparina.

Posteriormente el grupo de Magalhaes continuó el estudio fitoquímico encontrando: Livangetin, 7-dimetilsuberosina y por medio de resonancia magnética nuclear determinaron la estructura de la brosiprenina.

Calderón y col. (1964) estudiaron la composición química de Brosimum spp. Morácea del Perú, aislando e identificando el compuesto Xantiletina I y II, con fórmula condensada $C_{14}H_{12}O_3$.

De éste género obtuvieron esteroides cristalizados, en un porcentaje de 2.8 % del peso seco y detectaron la presencia del 17-alfa,acetoxi-21-hidroxi-20-oxo.

Pozetti G.L. & Bernardi A.C. (1971) analizaron la composición química de Brosimum guadichaudii, específicamente trabajaron con los frutos, los compuestos hallados fueron bergapteno que es una furocumarina y el psoraleno.

Gottlieb, O.R. y col. (1972) elaboraron un estudio fitoquímico de algunas especies de Brosimum del Amazonas, entre los compuestos existentes está la piranocumarina, furocumarina, brosiprenina y 0-fenilbrosiparina.

No se encuentran reportes sobre Brosimum alicastrum.

Género Chamaedora.

Arnasón J. T. & Lambert J.D. (1982) estudiaron la vegetación de algunas áreas de América Central, entre las especies estudiadas se encuentra Chamaedora spp. de la cual sólo pudieron señalar que es muy alto el contenido de nitrógeno de este género.

Género Cymbopetalum.

Cave, A. y col. (1998) realizaron estudios farmacológicos, de Cymbopetalum brasiliensis, descubriendo que tiene una propiedad inotrópica. El estudio reveló que los compuestos causantes de esta actividad son alcaloides cuaternarios, y son los siguientes: clorhidrato de magnofloxa, clorhidrato de metilsopalmina, clorhidrato de tembetonina y clorhidro-calletina.

Género Diospyros.

Ramachandra, R. L. y col. (1966) estudiaron a Diospyros melanoxylon y encontraron los triterpenos Me-ursolato, Me-oleonato y mezclas de lupeol-betulina, y ácido diospirico.

Lillie, T. J. y col. (1976) estudiaron a Diospyros

ehretione de la cual aislaron la ehretiona.

Género Rheedia.

Cavalcante M. y col. (1970) hicieron un estudio fitoquímico en Rheedia gardneriana detectando la presencia de 1,2-dihidroxixantona, 1,7-dihidroxixantona, 1,6-dihidroxi-5-metoxixantona, lupeol, betulina y beta-sitosterol.

Botta, B. y col. (1984) elaboraron una revisión fitoquímica en Rheedia benthamiana, y R. brasiliensis, en la primera trabajaron con la raíz y en la segunda con los frutos, encontrando: fukogetina, volkensiflavonas, la biflavona GB2A para el caso de la primera y xantichimol para la segunda.

Delle Monache y col. (1981, 1983, 1984, 1989) realizaron un estudio sobre la composición química de Rheedia gardneriana, detectando la presencia de las xantonas feniladas: 4,5 dihidroxi, 6 hidroxil 4,5"5 trimetilfurano, (2,3:6,7)-4-(1,1 dimetil-prop,2-enil).

Para continuar con los estudios sólo trabajaron con la raíz de la misma especie, aislando las siguientes xantonas: piranajacareubina, 7-fenil-jacareubina, y rhedixantona "A".

Posteriores estudios revelaron la presencia de otras xantonas las rhedixantonas I, II, III, IV, V.

También observaron que cuando estaba contaminada por hongos se producía la dihidrocurmarina.

Después determinaron la fórmula y estructura de xantonas

feniladas que son : la 4,5 dihidro, 1, 5, dihidroxi, 6, 6 dimetilpirano, (2"3":3,4) xantona, la 1,3,5, trihidroxi,6,6,dimetilpirano,(2'3':6,7)-4-(1,2 dimetil, prop-2-enil) xantona.y la 1,3,5,6,tetrahidroxi-4-(1,1,dimetilprop-2-enil) 7,3 metil-but-2-enil) xantona.

El equipo de trabajo de Delle Monache (1983) después investigó la composición química de otra especie del género Rheedia, la R. benthamiana específicamente trabajaron con la corteza y se detectaron las rhediaxantonas I,II,III a las cuales les determinaron la estructura por resonancia magnética nuclear.

Como se observa, los antecedentes fitoquímicos existentes en la literatura son escasos, no se refieren a las especies aquí estudiadas y no están enfocados a estudios de seguimiento durante el desarrollo de las plantas. Por lo que el interés del presente trabajo radica en determinar si existen metabolitos secundarios específicos para el estado de plántula y su seguimiento a través de todas las etapas de desarrollo del individuo.

Area de Colecta.

La sierra de los Tuxtlas, se encuentra al sureste del estado de Veracruz, a la altura del paralelo $18^{\circ} 30'$ y del meridiano 95 (Fig. 1).

Es una pequeña sierra que interrumpe la llanura costera del Golfo, de dirección NW-SE; convencionalmente se puede delimitar al WS y SE por la curva de nivel de 200 m snm, y al N y E por la costa misma del Golfo; de trazo más o menos ovoide, con un eje mayor de 78 km y un eje menor de 40 Km (Fig. II).

Hacia el centro de la sierra se encuentra el Lago de Catemaco y hacia el NW y SW del mismo se encuentra la estación de Biología Tropical "Los Tluxtlas" de la U. N. A. M. dedicada al estudio y conservación de una reserva ecológica.

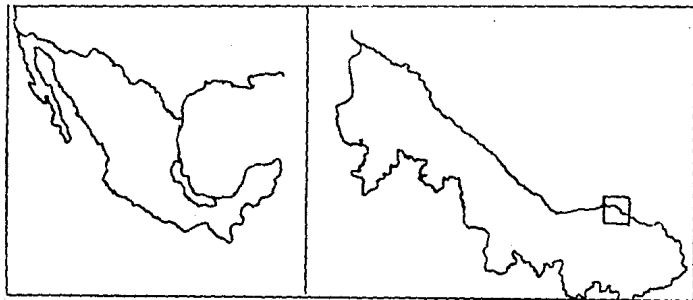


Figura 1.- Ubicación de la sierra de los Tuxtlas.

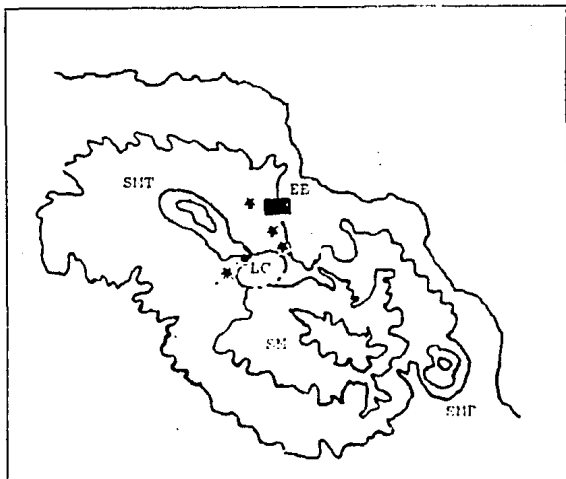


Figura 2.- Area de los Tuxtlas donde se efectuó la colecta del material biológico.

EB= estación de Biología.
 SMT = Volcán de San Martín
 LC = Lago de Catemaco.
 SM = Volcán de Santa Martha.
 SMP = Volcán de Sn Martín Pajapan.
 * = área de colecta

La zona de los Tuxtlas constituye la extensión más oriental de la cadena montañosa, que forma el eje volcánico transversal (Figura 2). El clima de la región es cálido-húmedo, con una temperatura promedio anual de 25 C. La precipitación pluvial promedio anual es de 5000 mm presentándose nortes de noviembre a

febrero, con una estación de secas de marzo a mayo.

La comunidad predominante es la de la Selva Alta Perennifolia, que posee ejemplares vegetales de gran talla (25 m ó más) numerosas lianas y epifitas, así como un sotobosque relativamente umbrófilo en el que predominan las palmas.

Material y Método.

Colecta.

Se llevó a cabo del 19 al 20 de junio de 1990, y se colectaron semillas, plántulas, plantas jóvenes y plantas adulto de las cinco especies siguientes:

Espece.	Familia.
<u>Brosimum alicastrum.</u>	Moráceae.
<u>Chamaedora tepelilote.</u>	Anonáceae.
<u>Cymbopetalum baillonii.</u>	Palmae.
<u>Diospyros digyna.</u>	Ebenáceae.
<u>Rhedia edulis.</u>	Gutiferae.

Otra parte importante del material fue facilitada por la M.en C. Carmen Rodríguez del Laboratorio de Ecofisiología del Centro de Ecología de la U.N.A.M.

Preparación del Material.

El material colectado de cada especie, se dejó secar a temperatura ambiente (20 a 22 C) durante una semana, después se molió finamente para su posterior procesamiento.

Extracciones Selectivas.

Se realizaron a reflujo comenzando con hexano y después con

metanol (Fig. 3). Para todos los casos se empleó una muestra de 10 g (ya fuera semilla, hojas de plántula, hojas de planta joven ó hojas de adulto) la que primero se extrajo con hexano por ser el disolvente menos polar (8 h X 3).

Al concluir cada extracción se filtró y en el rotavapor se concentró el extracto, reuniéndose los tres concentrados y llevándolos a sequedad. Estos extractos se pesaron y se calculó su rendimiento respecto al peso seco, (Tabla 1).

Posteriormente las muestras extraídas con hexano se dejaron secar y se extrajeron con metanol, siguiendo el procedimiento anterior.

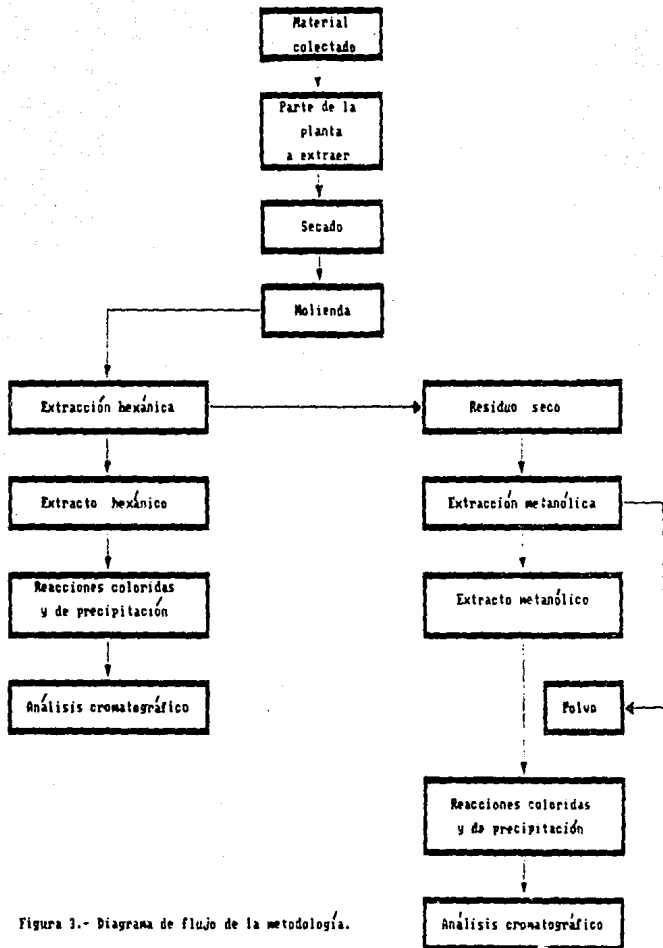


Figura 3.- Diagrama de flujo de la metodología.

Análisis de los extractos.

Para realizar éste análisis se pesaron 10 mg de extracto (de cada uno) y se disolvieron en 10 ml de cloroformo ó metanol según el extracto (solución madre) los extractos con clorofila se decoloraron con carbón activado. Posteriormente de cada solución se tomaron alícuotas de 1 ml y con ellas se realizaron las siguientes pruebas:

a) Determinación del perfil cromatográfico en placa fina de gel de sílice.

Se corrieron placas individuales por especie, en las que se colocaron 10 microlitros de los extractos hexánicos y metanólicos, de las diferentes partes de cada una, empleando como eluyentes hexano-acetato de etilo 8:2, y butanol ácido acético-agua 5:1:4, respectivamente.

b) Caracterización de los grupos de compuestos químicos por reacciones de coloración y precipitación.

Se emplearon alícuotas de 1 ml. de la solución madre y las pruebas fueron las siguientes:

Molisch para glicósidos.

Dragendorff y silicotungstico para alcaloides

Prueba de espuma para saponinas.

Liebermann-Buchard para terpenos-esteroides.

Shinoda para Flavonoides.

* Las técnicas se encuentran en el Apéndice.

Resultados y discusión.

Extractos.

Como se observa en la Tabla 1 los mayores rendimientos con relación al peso seco corresponden a los extractos metanólicos a excepción de los extractos hexánicos de semillas de Chamaedora tepefilote y Cymbopetalum baillonii.

En los extractos metanólicos se aprecian los mas altos rendimientos de las plantas juvenes de Diospyros digyna y Rheedia edulis, con un 21.8 % y 19.4 % respectivamente.

Los extractos se sometieron a pruebas coloridas y de precipitación para caracterizar los grupos de metabolitos secundarios.

En los extractos hexánicos la prueba de alcaloides con ácido silicotúngstico y el reactivo de Dragendorff (Tabla 2) resultó negativa para todas las especies y etapas del ciclo de vida.

En cuanto a las saponinas no se presentan en ninguna etapa de las especies estudiadas.

ETAPA	ESPECIE	EXT. HEXANICO %	EXT. METANOLICO %
Semilla		5.298	16.993
	<u>Brosimum alicastrum</u>		
Plántula		0.867	9.927
Planta joven		1.410	9.954
Planta adulto		2.509	10.029
Semilla		1.006	0.875
	<u>Chamaedora tepejilote</u>		
Plántula		0.317	2.538
Planta joven		1.827	8.936
Planta adulto		3.007	13.750
Semilla		12.157	8.134
	<u>Cymbopetalum baillonii.</u>		
Plántula		1.727	2.285
Planta joven		2.983	8.936
Planta adulto		1.545	13.750
Semilla		0.346	4.405
	<u>Diospyros digyna.</u>		
Plántula		1.122	14.774
Planta joven		1.337	21.830
Planta adulto		1.877	9.130
Semilla		14.000	15.000
	<u>Rheedia edulis</u>		
Plántula		3.706	16.788
Planta joven		3.785	19.463
Planta adulto		2.839	15.632

Tabla 1.- Rendimientos.

Especie.	Grupos de metabolitos secundarios			
	Alcaloides		Terpenos - esterodes	
	Hexánico - Metanólico	Hexánico - Metanólico	Hexánico - Metanólico	Hexánico - Metanólico
<u>Brosimum alicastrum</u>				
Semilla	----	----	----	-X
Plántula	----	----	XX	----
Planta joven	----	----	XX	----
Planta adulto	----	----	XX	----
<u>Chamaedora tepejilote</u>				
Semilla	----	----	----	X
Plántula	----	----	XXX	----
Planta joven	----	----	XXXX	----
Planta adulto	----	Huellas	XXX	Huellas
<u>Cymbopetalum baillonii</u>				
Semilla	----	----	----	X
Plántula	----	----	X	----
Planta joven	----	Huellas	XX	----
Planta adulto	----	Huellas	X	----

Tabla 2.- Alcaloides y terpenos-esteroides presentes en las cinco especies estudiadas.

*Los valores de la escala se presentan en el Apéndice.

	Alcaloides		Terpenos esteroides	
	Hexánico	Metanólico	Hexánico	Metanólico
<u>Diospyros digyna</u>				
Semilla	----	----	----	-X
Plántula	----	----	X	----
Planta joven	----	Huellas	-X	----
Planta adulto	----	----	----	----
<u>Rheedia edulis</u>				
Semilla	----	----	----	-X
Plántula	----	----	X	----
Planta joven	----	X	X	----
Planta adulto	----	Huellas	XXX	----

Flavonoides				
Especie	Extracto	Hexánico	Extracto	Metanólico
<u>Brosimum alicastrum</u>				
Semilla	----		----	
Plántula	----		----	
Planta joven	----		----	
Planta adulto	----		----	
<u>Chamaedora tepejilote.</u>				
Semilla	----		----	
Plántula	X		----	
Planta joven	-X		----	
Planta adulto	-X		----	
<u>Cymbopetalum baillonii</u>				
Semilla	----		X	
Plántula	----		X	
Planta joven	----		X	
Planta adulto	----		-X	

Tabla 3.-Contenido de flavonoides en las cinco especies.

continuación de la tabla 3 . .

Flavonoides		
	Extracto Hexánico	Extracto Metanólico
<u>Diospyros digyna</u>		
Semilla	----	----
Plántula	XX	----
Planta joven	X	----
Planta adulto		----
<u>Rheedia edulis</u>		
Semilla	X	X
Plántula	-X	X
Planta joven	-X	X
Planta adulto	X	XX

Especie	Glicósidos extracto metanólico.
---------	------------------------------------

Brosimum alicastrum

Semilla	XXXX
Plántula	X
Planta joven	-X
Planta adulto	X

Chamaedora tepejilote

Semilla	XXXX
Plántula	X
Planta joven	XX
Planta adulto	-X

Cymbopetalum baillonii

Semilla	XX
Plántula	X
Planta joven	-X
Planta adulto	---

Diospyros digyna

Semilla	XXXX
Plántula	X
Planta joven	X
Planta adulto	-X

Tabla 4.- Contenido de glicósidos en las cinco especies.

continuación de la tabla 4 . . .

Glicósidos del extracto metanólico	
<u>Rheedia edulis</u>	
Semilla	XX
Plántula	----
Planta joven	----
Planta adulto	----

A continuación se presentan los resultados de las pruebas de identificación de M. S. presentes en los extractos hexánicos.

Intensidad

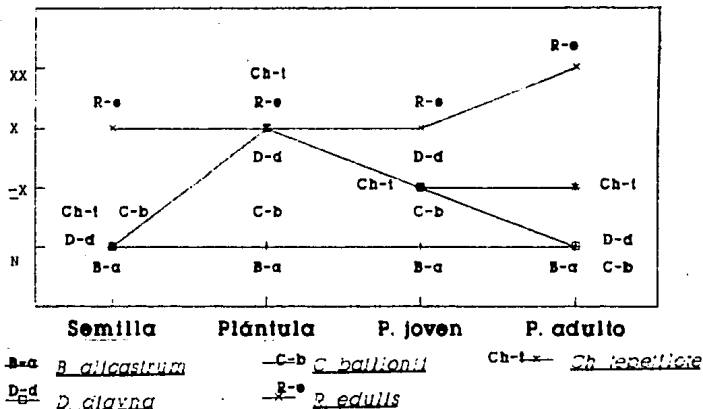


Figura 3.- Intensidad de la reaccion de identificación de flavonoides.

Cymbopetalum baillonii y Brosimum alicastrum no son sensibles a la prueba, de flavonoides en cambio las otras tres especies si. Chamaedora tepalote en la etapa de semilla no posee flavonoides hasta la etapa de plántula, después decrece la intensidad en planta joven y se mantiene la misma concentración en la etapa adulta.

En la semilla de D. digyna, se observa una baja intensidad de flavonoides , aumenta en la plántula, decrece en la planta joven y desaparece en el adulto. Rheedia edulis es la única especie que contiene flavonoides desde la etapa de semilla con una intensidad similar en la plántula y la planta joven, sólo se incrementa su intensidad en la etapa adulto.

Intensidad

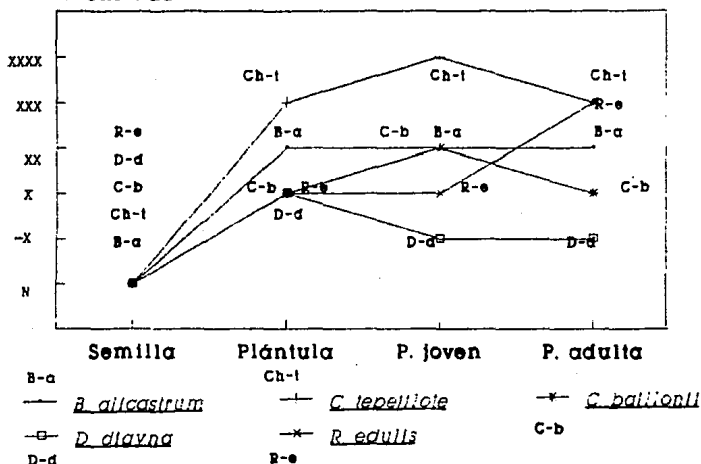


Figura 4.- Intensidad de la reacción de identificación de terpenos-esteroides.

Los terpenos y esteroides se encuentran en todas las especies a partir de la etapa de plántula. En Brosimum alicastrum la concentración se mantiene constante desde que aparece. Chamaedorea tepelilote tiene la mayor concentración en la planta joven, en la etapa plantular y planta adulto tiene la misma concentración de éstos compuestos.

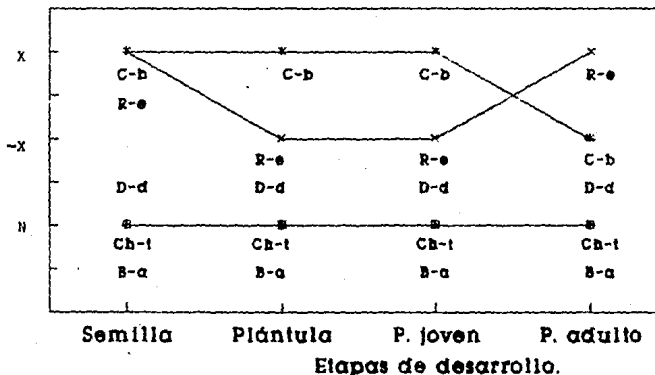
Cybopetalum baillonii tiene la más elevada concentración de terpenos-esteroides en la etapa de planta joven y en la plántula y planta adulto tiene la misma concentración.

Diospyros digyna tiene la mayor concentración de terpenos-esteroides en plántula, después decrece en la planta joven y mantiene la misma concentración en la planta adulta.

En Rheedia edulis la plántula tiene la misma concentración que la planta joven, y se incrementa en la etapa del adulto.

En cuanto a los extractos metanólicos, en la siguiente gráfica se observan los resultados de la prueba de identificación de Flavonoides.

Intensidad.



~~B-a~~ *B. allicastrum* *Ch-t* *Ch. tepellote* ~~C-b~~ *C. ballanli*
~~D-d~~ *D. dayna* ~~R-e~~ *R. edulis*

Figura 5.- Intensidad de la reacción de intensidad de flavonoides.

Esta prueba fué negativa en todas las etapas de Brosimum

alicastrum, Chamaedora tepelilote y Diospyros digyna.

Rheedia edulis y Cymbopetalum baillonii poseen flavonoides en todo el ciclo de vida.

Cymbopetalum baillonii presenta la misma concentración de flavonoides en la etapa de semilla, plántula, y planta joven, sólo en el adulto disminuye la concentración pero no desaparece.

Rheedia edulis tiene la más elevada concentración de flavonoides en semilla y adulto, mientras que en la plántula y la planta joven se observan concentraciones similares, pero inferiores a la de las otras etapas.

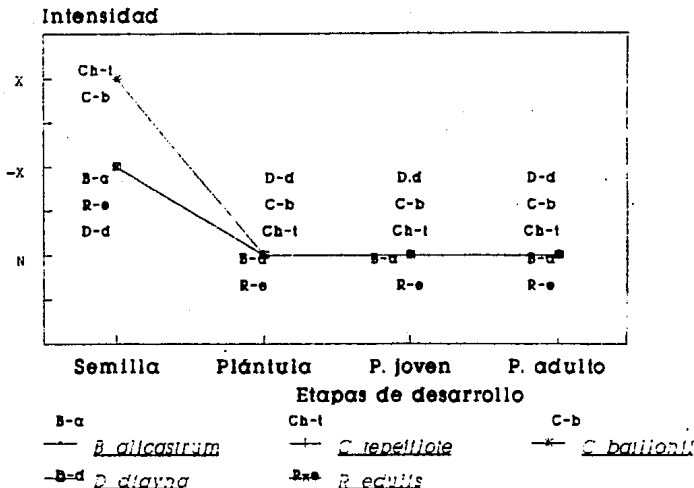


Figura 6.- Terpenos-esteroides presentes en el extracto metanólico de las cinco especies.

Los terpenos y esteroides se encuentran en el extracto metanólico, exclusivamente en la etapa de semilla.

Brosimum alicastrum, *Diospyros digyna*, y *Rheedea edulis*, presentan bajas concentraciones de éstos compuestos mientras que *Chamaedora tepalilote*, y *Cymbopetalum baillonii* tienen una concentración mayor.

Estos compuestos están en todo el ciclo de vida de de las cinco especies y en la semilla por encontrarse sólo en el extracto metanólico se supone que están como glicósidos.

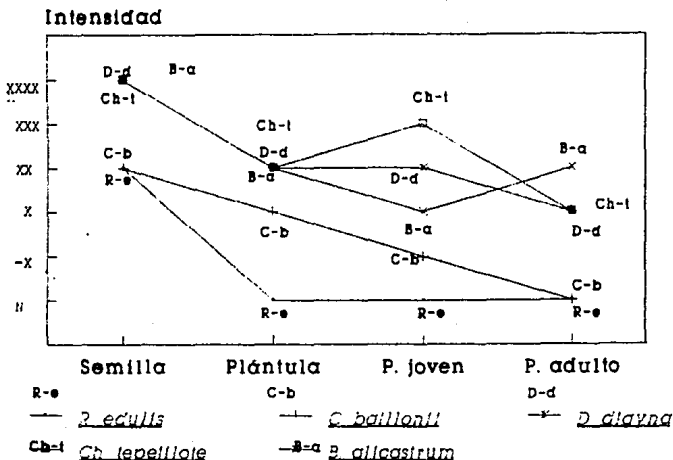


Figura 7.- Intensidad de la reacción de identificación de Glicósidos.

En la gráfica anterior se observa que la reacción de Molisch en *Rheedia edulis* es positiva sólo en la etapa de semilla.

Brosimum alicastrum, *Chamaedora tepelilote* y *Diospyros digyna*, presentan la misma concentración de glicósidos en las etapas de semilla y plántula. *B. alicastrum*, en la etapa joven presentó un descenso en la concentración y en el adulto se incrementó nuevamente. *Ch. tepelilote*, aumenta la concentración de los compuestos en la planta joven y decrece en el adulto pero no desaparece. En el caso de *C. baillonii*, la mayor concentración está en la semilla, misma que decrece paulatinamente en las etapas de plántula, y planta joven desapareciendo en el adulto.

Diospyros digyna en etapa de semilla presentó la más alta concentración de glicósidos, en la plántula y planta joven éstos compuestos tienen igual concentración, y en adulto decrece la concentración pero no desaparecen.

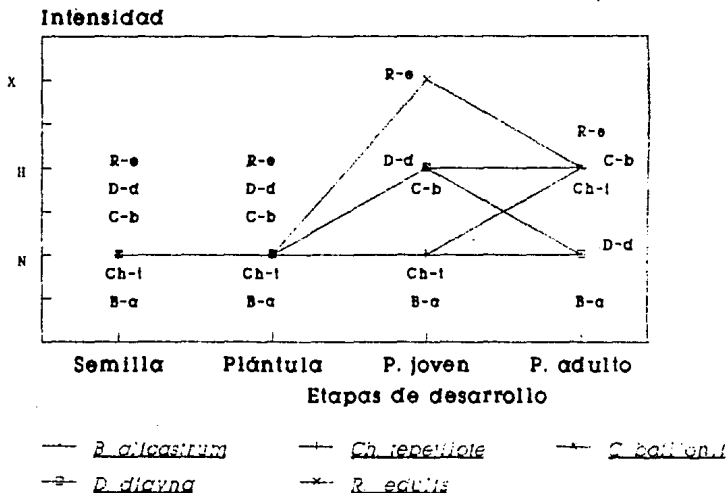


Figura 8.- Intensidad de la reacción de identificación de alcaloides.

Brosimum alicastrum no presenta alcaloides en ninguna etapa del ciclo de vida. Chamaedorea tepelilote presenta huellas de alcaloides sólo en la etapa adulto. En las etapas de semilla

y plántula tampoco presentan alcaloides las otras tres especies.

Diospyros digyna y Cymbopetalum baillonii presentan huellas de alcaloides en la planta joven, D. digyna desaparece en el adulto, y C. baillonii se mantiene constante. En Rheedia edulis, la reacción es positiva para la planta joven y en el adulto sólo hay huellas.

Como se puede apreciar en las gráficas anteriores las concentraciones de los compuestos representados son diferentes y su distribución no es uniforme en las etapas de una misma especie.

A continuación se analizan los grupos de metabolitos secundarios presentes en cada especie, en sus diferentes etapas de desarrollo de ambos extractos.

Intensidad.

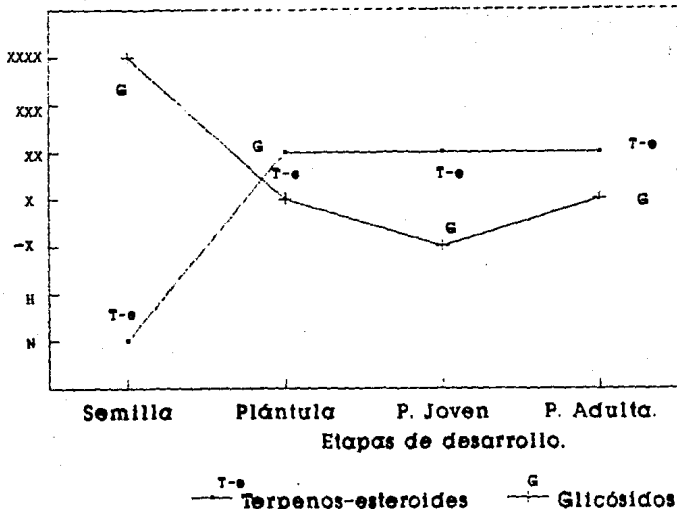
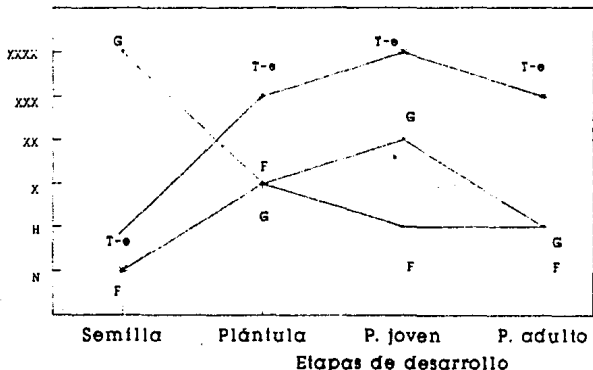


Figura 9.- Contenido de metabolitos secundarios en diferentes etapas de desarrollo de Brosimum alicastrum.

En Brosimum alicastrum se encontraron glicósidos y terpenos-esteroides en todo el ciclo vital. Los glicósidos en la semilla tienen la mayor intensidad, para después decrecer, en plántula y en el adulto, presentan la misma concentración y en el joven se observa la más baja concentración de glicósidos.

El grupo de terpenos-esteroides, en la semilla aparece ligeramente positiva, a partir de la etapa plantular aumenta la concentración, manteniéndose constante en planta joven y adulto.

Intensidad



G
F
T-e
 — Glicósidos — Flavonoides — Terpenos-esteroides

Figura 10.- Contenido de metabolitos secundarios presentes en diferentes etapas de desarrollo de Chamaedora tepalilote

Chamaedora tepalilote presenta terpenos-esteroides y glicósidos en todo el ciclo vital, mientras que los flavonoides aparecen a partir de la etapa de plántula.

La mayor concentración de glicósidos se presentó en la etapa de semilla, después decrece en la plántula, aumenta en la planta joven y disminuye pero no desaparece en el adulto.

Los terpenos-esteroides en la semilla tienen la más baja concentración para aumentar en la etapa de plántula y en la planta joven tienen la mayor concentración decreciendo en la planta adulta.

Los flavonoides tienen su mayor concentración en plántula, decrece en planta joven y se mantiene igual en el adulto.

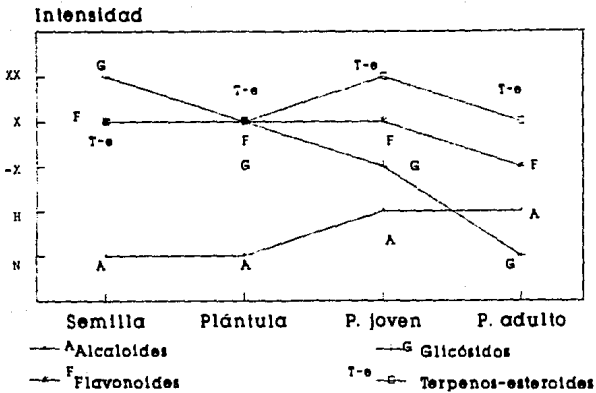


Figura 11.- Contenido de metabolitos secundarios en diferentes etapas de desarrollo de Cymbopetalum baillonii.

En ésta especie se presentan terpenos-esteroides, glicósidos y flavonoides en todo el ciclo vital.

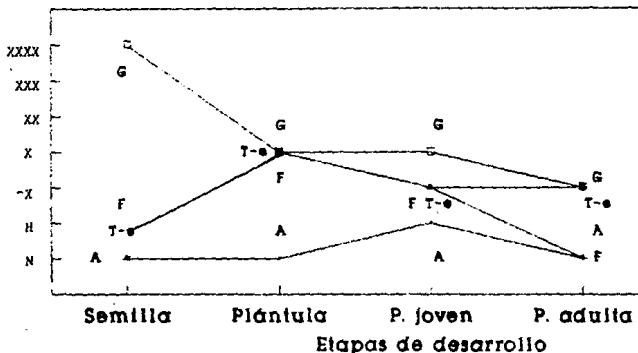
Los terpenos-esteroides presentan su mayor intensidad en la planta joven, las otras tres etapas tienen la misma concentración

Los flavonoides tienen la misma concentración en semilla, plántula y planta joven sólo en la etapa del adulto disminuye la concentración.

Los alcaloides se encuentran sólo en la etapa joven y adulto en igual concentración.

Los glicósidos en la semilla tienen la mayor concentración la que disminuye de manera gradual hasta que en el adulto ya no se presentan.

Intensidad



- A Alcaloides
- F Flavonoides
- T-e Terpenos-esteroides
- G Glicósidos

Figura 12.- Contenido de metabolitos secundarios en diferentes etapas de desarrollo de *Diospyros digyna*.

En *Diospyros digyna* se encuentran terpenos-esteroides, glicósidos en todo el ciclo de vida, flavonoides a partir de la plántula y alcaloides sólo en la etapa de planta joven. Los glicósidos tienen la más alta intensidad en la semilla, después disminuye, en la plántula y planta joven tiene la misma intensidad y en la planta adulto tiene la menor intensidad de glicósidos.

Los terpenos-esteroides tienen la más baja intensidad en la etapa de semilla, se incrementa en la plántula y después disminuye, en planta joven y adulto tiene la misma intensidad. Los flavonoides tienen la mayor intensidad en la plántula y luego disminuyen para finalmente desaparecer en la etapa adulto.

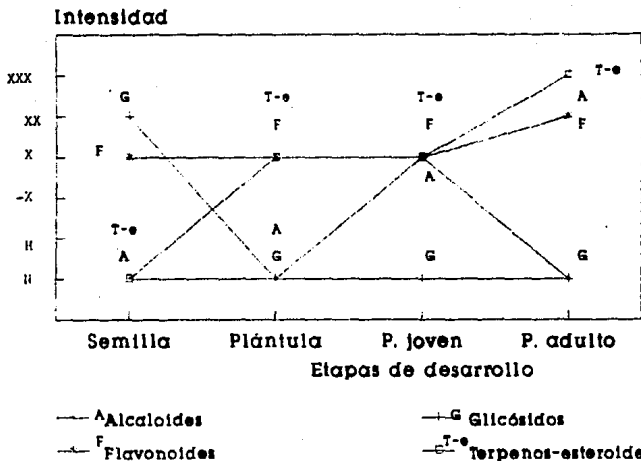


Figura 13.- Metabolitos secundarios presentes en diferentes etapas de desarrollo de *Rheedia edulis*.

Los metabolitos secundarios presentes en *Rheedia edulis* son flavonoides y terpenos-esteroides en todo el ciclo de vida, glicósidos sólo en la semilla, y alcaloides en las etapas de planta joven y adulto.

Los flavonoides tienen la misma concentración en la semilla, plántula, y planta joven, y en el adulto se incrementa la concentración.

Los terpenos-esteroides tienen la más baja concentración en la semilla, en la plántula y la planta joven tienen la misma concentración y en adulto se incrementa la concentración de éstos compuestos. Los alcaloides tienen la mayor concentración en la

etapa joven y solo huellas en el adulto.

Los glicósidos sólo aparecen en la semilla.

Después de analizar la presencia ó ausencia de grupos de metabolitos secundarios en cada especie y etapa se observa que en cuatro especies se encontraron cuatro de cinco de los compuestos buscados, (C. baillonii, C. tepejilote, D. digyna, y B. edulis).

En B. alicastrum sólo hay dos de los cinco compuestos buscados (glicósidos, y terpenos esteroides).

En cuanto a las etapas de desarrollo, las semillas, y las plántulas de todas las especies estudiadas no presentan alcaloides.

Ninguna de las especies estudiadas presentó saponinas.

Las semillas de B. alicastrum, Ch. tepejilote, y D. digyna no presentan flavonoides.

En todas las especies estudiadas la más alta concentración de glicósidos está en la semilla.

Los perfiles cromatográficos.

Los perfiles se determinaron por cromatografía, en capa fina de gel de sílice.

En cada placa se colocaron extractos de las cuatro etapas del ciclo de vida de una especie con los resultados siguientes:

Para los extractos hexánicos (Figura 14):

En Diospyros digyna los perfiles de las cuatro etapas son diferentes.

En Brosimum alicastrum, Chamaedora tepejilote y Rheedia edulis los perfiles de plántula y p. joven para cada especie son idénticos, los del adulto son muy semejantes a los de plántula y planta joven y los de la semilla difieren un poco más.

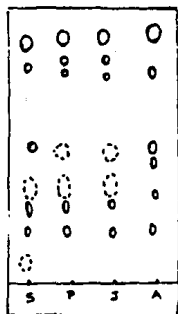
Finalmente en Cymbopetalum baillonii los perfiles de plántula, planta joven y planta adulto son iguales, y el de la semilla difiere por la ausencia de una mancha.

Para los extractos metanólicos (Figura 15):

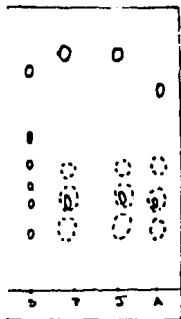
En Brosimum alicastrum y Chamaedora tepejilote los cuatro perfiles de las etapas son diferentes.

En Cymbopetalum baillonii los perfiles de la planta joven y planta adulto son prácticamente iguales, y los de plántula y semilla difieren.

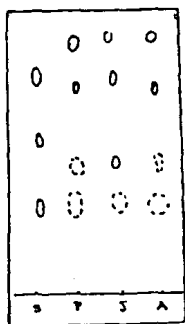
En Diospyros digyna y Rheedia edulis los perfiles de plántula y planta joven son iguales en cada especie y difieren los de planta adulta y semilla.



Brosimum alicastrum

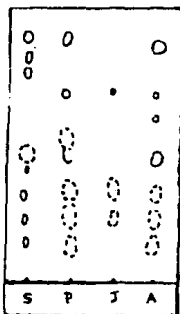


Chamaedora tepejilote

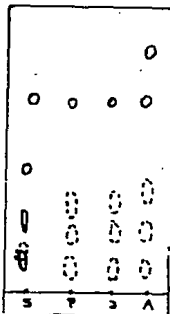


Cymbopetalum

baillonii

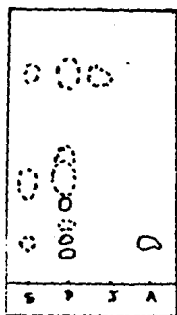


Diospyros digyna

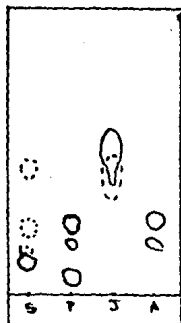


Rheedia edulis

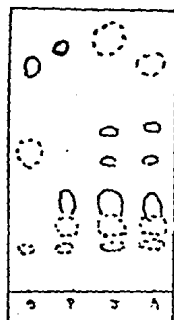
Figura 14.- Perfiles cromatográficos de los extractos hexánicos con el sistema de eluyentes hexano:acetato de etilo 8:2.



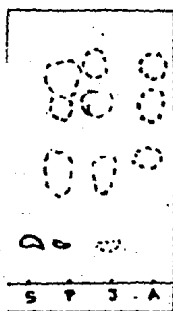
Brosimum alicastrum



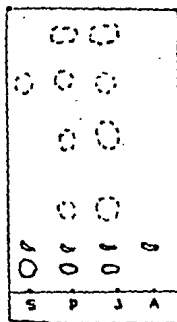
Chamaedora tepezilote



Cybisterium taxillonia



Diospyros discyna



Koeberlinia

Figura 15.- Perfiles cromatográficos de los extractos metanólicos corridos con el sistema de eluyentes butanol:ácido acético:agua 5:1:4.

Conclusiones.

1.- Los rendimientos más altos se registran en los extractos metanólicos de las cinco especies, a excepción de los extractos hexánicos de la etapa de semilla de Cymbopetalum baillonii y Chamaedora tepajilote.

2.- De los cinco grupos de metabolitos secundarios buscados (alcaloides, terpenos-esteroides, flavonoides, glicósidos, saponinas), se encontraron todos menos saponinas.

3.- La distribución de los cuatro grupos de metabolitos secundarios encontrados no es uniforme en las distintas etapas de desarrollo analizadas en las especies (semilla, plántula, planta joven, y planta adulto), ni tampoco lo es su concentración.

4.- En semilla no se encontraron alcaloides, y debido a que en el extracto hexánico no hubo reacción positiva para terpenos-esteroides y flavonoides, pero si en el extracto metanólico, se supone que los compuestos de éstos dos grupos se encuentran como glicósidos.

5.- Los perfiles cromatográficos de las distintas etapas de desarrollo de cada especie guardan semejanza, mayor entre los de plántula y planta joven y menor entre los de semilla y adulto con respecto a los anteriores.

6.- Las semillas de todas las especies presentan el perfil

cromatográfico mas sencillo.

7.- Aparentemente ninguno de los grupos de metabolitos secundarios detectados en las cinco especies es propio ó tipico de la etapa plantular, por lo que se supone no estan relacionados con la baja herbivoría registrada.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Bibliografía.

- Albersheim, P. (1975). Plant cell walls. New York: Academic.
- Argilés, M. J. & L. F. J. Solano. (1986). Las armas bioquímicas de los seres vivos. Mundo Científico 6 (57),
- Alvarez, A. G. R. (1981). Anatomía de la madera de 21 especies de la región de los Tuxtlas, Veracruz. Tesis de Licenciatura en U. N. A. M. México, D. F.
- Arnason, J. T. & J.D. M. Lambert. (1982). Nitrogen cycling in the seasonall dry forest zone of Belize, America Central.
Plant. Soil. 6 (1-3), 333-349.
- Brehm, B.G., & Krell, D. (1975). Flavonoid localization in epidermal papillae of flowers petals. Science 190: 1221-23.
- Botta, B., Marquina McQuhae M., Delle Monache G., Delle Monache J., & J. F. De Mello. (1984). Chemical investigation of the genus Rheedia, biflavonoids and Xantochimol. I. Nat. Prod. 47 (6), 1053-56.
- Brower, L. P. (1969). Química ecológica 2a edición.
España: Alhambra
- Calderón, V., (1963). Brief study of a steroid from Brosimum species. Rev. Fac. Quim. Univ. Nal. 15 (1-2), 8-43.
Lima.

- Calderón, V., Casinovi G., Grandolini G., y G. B. Menni Bellollu (1964). Occurrence of Xanthiletin in the wood of a Brosimum spp. Ann. Chemical. 54 (343-348).
- Cave A., Debourges D., Lewin G., Moretti C., & C. Dupont. (1998). Alkaloids of Annonaceas, chemistry and pharmacology. Plant. and Med. 50 (6), 517-519.
- Cavalcante, M., Gottlieb, G., y R. Otto. (1970). Chemistry of Brazilian Gutiferae Xanthonas of Rheedia gardneriana. Natur. Univ. 9 (3), 673. Sao Paulo, Brasil.
- C. N. E. B. (1974). Biología interacción de ideas y experimentos. México Limusa.
- De Ley J., y K. Kernsters. (1975). Comprehensive Biochemistry. Amsterdam : Florking.
- Delle Monache, G., Botta, B., De Mello, J., Jai Foo., Gaelho J., & Barrios J. S. (1989). Chemical investigation of genus Rheedia IV. I. Nat. Prod. 47 (4), 620-625.
- Delle Monache, G., (1981). Xanthonas feniladas de Rheedia gardneriana Inst. Conf. Chem. Nat. Prod. 3 (1), 117-119.
- Delle Monache, G., Delle Monache, F., Marrini, D., & Ballista J.B. (1983). Chemical investigation of Rheedia II. I. Nat. Prod. 46 (5), 655-659.

- Delle Monache, G., Delle Monache, F., Watermann, P. G. & Crichton, P. (1984). Investigation of genus Rheedia. Phytochemistry 23 (8), 1757-1759.
- Delle Monache, G., Botta B., Nicoletti, M., Barrios, J. S., & Lira, F. (1981). Tree new xanthonas and macluraxanthonas of Rheedia benthamiana. I. Chem. Soc. (2), 484-8.
- Dirzo, R. (1985). Metabolitos secundarios en las plantas atributos Panglossianos ¿ de valor adaptativo ? Revista Ciencias. 36:137-145.
- Dirzo, R. (1991). Rescate y restauración ecológica de la Selva de los Tuxtles. Ciencia y Desarrollo. 17 (97), 33-45.
- Domínguez, X. A. (1979). Métodos de investigación fitoquímica. México: Limusa.
- Erickson, J. M. y P. P. Feeny. 1974. " Sinigrin: Chemical barrier to the black swallowtail butterfly Papilio polixenes" .Ecology. 55: 103-111.
- Frend, J., Johnson, M., Swain, T. (En imprenta). Increase in bound ferulic acid in potato leaves on infection with Phytophthora infestans.
- Gottlieb, O. R., Liao, S., Maia, S. M., Soarez, T. (1972). Plant Chemosistematics and phylogeny. Phytochemistry. 11 (12), 3479-80.

- Gibbs, R. D. (1974). Chemotaxom of flowering plants. Montreal
Mc. Gill Queens Univers.
- Goulds, J. & Lewontin, R. (1976). The spandrels of San Marcos
an the Panglossian paradigm. Mundo Cientifico. 3 (21).
- Gray, B. (1972). Economic tropical forest entomology. Ann. Rev.
Plant. Physiol. 17: 313-54.
- Grunwald, C. (1975). Plant steroids. Ann. Rev. Plant. Physiol.
26: 299-226.
- Hartley C. 1973. Carbohydrate esters of ferolic acid as
components of cell wall of Litium multiflorum.
Phytochemistry. 12: 661- 65.
- Hartley, R.D., Jones, E.C., & Fenlosn F. (1974). Prediction of
the digestibility of forages by treatment of their cell walls
with cellulolytic enzymes. Journal Sci. Food. Agric. 25:
947-54.
- Hanover, J.W. (1975). Physiology of tree resistance to
insects. Ann. Rev. Entomol. --
- Hegnauer, R. (1962-73). Chemotaxonomy der pflanzen. England.
- Janzen, D.H., & Martin R. (1981). Ecology. England.
- Jones A. D. (1979). Chemical defense, primary other secondary
function ? . The Amer. Nat. 112 (3), 445-451.

- Koeppe, D.E., & Miller, R. T. (1974). Kaemperol inhibitions of corn mitochondrial phosphorilation. Plant Physiol. 54 374-78.
- Lillie, T. J., Musgrave, O. C., & Skoiled, D. (1976). Extract of ebenaceae Eheritione, bisnaptokinina, from plambanguin, and 7 metil juglona. J. Chem. Soc. 23 2546-48.
- López, M. L. (1982). Variación del tamaño de la semilla de Brosimum alicastrum Swartz in Veracruz . Tesis de Licenciatura en la U. N. A. M. México.
- Magalhaes, A.J., & Gottlieb, O. (1972) Chemical of Moraceae Brasilians, III Coumarins of Brosimum rubencens. Phytochemistry. 11 (11), 3307-3310.
- Magalhaes A.F., & Gottlieb, O. (1971). Chemistry of Brasilians Moraceae II, Brosiparin and other compounds of Brosimum rubencens. Ann. Acad. Brazil. Ciéncia. 43 (3-4), 585-586.
- Martínez, M. (1970). Catálogo de nombres científicos y vulgares de plantas mexicanas. México: EFE
- Miranda, F. (1952). La vegetación del estado de Chiapas. México Gobierno del estado.
- Morse, D. H. (1983). Las asclepias y sus visitantes. Science.

- Oyama, K. & Espinoza, F. (1986). Herbívoros y plantas cómo interactúan ? Ciencias (9), ___-___.
- Pacheco, L. (1956). La flora de Veracruz México: gobierno del Estado.
- Pennington P. & Sarukan P. (1968). Manual para la identificación en el campo de los principales Árboles tropicales de México. México INIFAC
- Pozetti G.L., & Bernardii, J. (1971). Estudio químico de Brosimum guarduchii. Rev. Fac. Farm. Odontol. 5 (2), 189-93.
- Pridham, J. B. (1974). Plant carbohydrate biochemistry. London Academic.
- Ramachandra R., Sankara R. C., & Sandare J. (1966). Chemical examination of Diospyros spp. Current Sci. 35 (18), 457-8.
- Roades D.F., & Cates R., C. (1979). A general Theory of plant antihervivory chemistry, biological, interactions between plant and insects. Recent Advances in Phytochemistry, 625-30.
- Robinson, T. (1974). Metabolism and function of alkaloids in plants. Science 184, 430-435.
- Rosenthal, G.A. & Janzen R. (1979). Herbivores : their interaction with secondary plant metabolism. New York:Academic Press

- Seigler, D.S. & Preece, J. (1976). Secondary compounds in plants: primary function ? . Am. 110, 101-105.
- Shauer, J. (1973). The Chemistry of marine natural products. New York :Academic.
- Williams, C., M. (1970). Hormonal interactions between plants and insects. In Chemical Ecology. 103-32.
- Wittaker R. H. & Feney J. (1971). Allelochemicals: Chemical interactions between specie. 171: 757-70.

Apéndice.

Escala de Intensidad colorida y su significado.

Símbolo	significado
N	Negativo, reacción negativa.
H	Huellas, reacción positiva apenas detectable.
- X	reacción positiva tenue.
X	reacción positiva valor considerado standart.
XX	reacción positiva, con intensidad duplicada del standart.
XXX	intensidad triplicada del standart.

El número de cruces indica incremento de la intensidad

Apéndice.

Escala de Intensidad colorida y su significado.

Símbolo	significado
N	Negativo, reacción negativa.
H	Huellas, reacción positiva apenas detectable.
- X	reacción positiva tenue.
X	reacción positiva valor considerado standart.
XX	reacción positiva, con intensidad duplicada del standart.
XXX	intensidad triplicada del standart.

El número de cruces indica incremento de la intensidad

Prueba de Molisch.

A 0.5 mg de extracto disuelto en etanol o metanol, (1 ml) se agregan dos gotas de una solución de alfa naftol en etanol y 1 ml de ácido sulfúrico concentrado dejándolo resbalar por las paredes poco a poco, de tal forma que el ácido y la solución metanólica se estratifiquen. Cuando es positiva se observa un anillo violeta en la interfase de los dos líquidos.

Prueba de la espuma para identificación de saponinas.

Esta prueba consiste en agitar durante 1 minuto los extractos diluidos en cloroformo, la espuma que se genera debe permanecer por lo menos 20 minutos para considerarse positiva.

Prueba de Liebermann-Buchard, para la identificación de terpenos-esteroides.

Se mezcla 1 ml de anhídrido acético y 5 ml de cloroformo a temperatura de 0 C, y se le añade una gota de ácido sulfúrico concentrado. Una porción de este reactivo se pone en contacto con la sustancia o soluciones clorofórmicas.

La formación de colores rojo, verde, azul, indican que es positiva la prueba.

Prueba del ácido Silicotungstico, para la identificación de alcaloides.

Se disuelven 50 g. de ácido silicotungstico, en ácido sulfúrico 6N, necesario para formar 100 ml. de solución.