Revista Tlamati Sabiduría

Volumen 5, Número 2. Abril-Junio 2014

Título del artículo.

Fluorescencia de flavonoides en órganos de guayaba *Psidium guajava* L.

Título del artículo en idioma Inglés.

Fluorescence of flavonoids in organs of guava *Psidium guajava* L.

Autores.

Dolores Vargas-Álvarez
Marcos Soto-Hernández
Víctor Arturo González-Hernández
E. Mark Engleman

Referencia bibliográfica:

MLA

Vargas-Álvarez , Dolores, Soto-Hernández, M. González-Hernández, V. A. y Engleman, M. E. "Fluorescencia de flavonoides en órganos de guayaba *Psidium guajava* L." Tlamati 5.2 (2014): 18-21. Print.

APA

Vargas-Alvarez, D., Soto-Hernández, M. González-Hernández, V. A. y Engleman, M. E. (2014). Fluorescencia de flavonoides en órganos de guayaba *Psidium guajava* L. *Tlamati*, 5(2), 18-21.

ISSN: 2007-2066.
Publicado el 29 de Junio del 2014.
© 2014 Universidad Autónoma de Guerrero
Dirección General de Posgrado e Investigación
Dirección de Investigación

TLAMATI, es una publicación trimestral de la Dirección de Investigación de la Universidad Autónoma de Guerrero. El contenido de los artículos es responsabilidad exclusiva de los autores y no refleja de manera alguna el punto de vista de la Dirección de Investigación de la UAG. Se autoriza la reproducción total o parcial de los artículos previa cita de nuestra publicación.

Revista Tlamati Sabiduría

Fluorescencia de flavonoides en órganos de guayaba *Psidium guajava* L.

Dolores Vargas-Alvarez[1*]
Marcos Soto-Hernández[2]
Víctor Arturo González-Hernández[3]

[1]Universidad Autónoma de Guerrero. Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas, Avenida Lázaro Cárdenas s/n, Colonia La Haciendita, Chilpancingo, Guerrero, México.
[2]Instituto de Recursos Naturales del Colegio de Postgraduados. Km. 36.5 carretera México-Texcoco C. P. 56230, Montecillo, Edo. de México, México.
[3]Instituto de Recursos Genéticos y Productividad del Colegio de Postgraduados. Km. 36.5 carretera México-Texcoco C. P. 56230, Montecillo, Edo. de México, México.
Autor de correspondencia

Resumen

Con el objeto de ubicar anatómicamente los flavonoles en guayaba (*Psidium guajava* L.), se hicieron cortes en fresco, y se observo al microscopio de fluorescencia con un filtro de 520 nm de excitación y 490 nm de emisión. La fluorescencia fue positiva en la epidermis adaxial, abaxial y glándulas en hoja madura, en hoja joven solo presentó en la epidermis adaxial, en el fruto fue positivo en la epidermis y en espacios esquizógenos, y en tallo en espacios esquizógenos, en protofloema y tricomas.

Palabras clave: tallo, fruto, hoja, flavonoides, *Psidium guajava* L.

Abstract

This study is focused on finding (*Psidium guajava L.*) guava's flavonols. Fresh cuts were obtained in order to observe the orange fluorescence, using a microscope with 520 nm excitation and 490 nm emission. Fluorescence was positive in adaxial epidermis, abaxial and glands of mature leaves. In young leaves, fluorescence was only found in adaxial epidermis. In fruit, fluorescence was positive in epidermis and schizogenetic spaces. In stem, fluorescence was found in schizogenetic spaces, and protophloem, and trichomes.

Como citar el artículo:
Vargas-Alvarez, D., Soto-Hernández, M. González-Hernández, V. A. y Engleman, M. E. (2014). Fluorescencia de flavonoides en órganos de guayaba *Psidium guajava* L. *Tlamati*, 5(2), 18-21.

Introducción

Los flavonoides son una clase de compuestos fenólicos, que virtualmente se encuentran en todas las plantas verdes de la superficie de la tierra. Se les atribuye una serie de funciones en las plantas, como protección contra la incidencia de radiación ultravioleta (UV), desarrollo de coloración, atrapar radicales libres, defensa contra microorganismos e insectos, acción en la polinización y crecimiento del tubo polínico, formación de nódulos, y alelopatía (Harborne, 1984). Así, la localización y compartamentalización de estos compuestos dentro de la planta es de significancia con respecto a sus funciones. Por ejemplo, los flavonoides conjugados en la pared celular, pueden ser raramente vistos en funciones fuera de estos tejidos. Su presencia puede ser detectada, porque pueden ser extraídos por medio de sus características de solubilidad.

Como protectores de la radiación UV, en las hojas, los flavonoides actúan como moléculas internas que tamizan los rayos de luz UV para proteger los tejidos fotosintéticos (Koes y Quattrochio, 1994; Shirley, 1996). Los flavonoides normalmente se encuentran conjugados con glicósidos, como en eucalipto (Conde, Cadahía y Garcia-Vallejo, 1997), cebolla (Bilyk, Cooper y Sapers, 1984), guayaba (Seshadri y Vasishta, 1965).

Abundante evidencia sugiere que los flavonoides vegetales son sintetizados en el retículo endoplásmico (Hrazdina, Marx y Hoch, 1982; Stafford, 1990), y luego traslocados hacia una variedad de sitios específicos, particularmente a las cutículas y vacuolas epidérmicas (Stafford, 1990). Algunas evidencias sugieren que los flavonoides pueden ser compartamentalizados en o sobre una variedad de organelos, como núcleo y citoplasma (Markham, Ryan, Gould y Rickards, 2000).

La deposición de los flavonoides en la pared celular fue originalmente propuesta al considerar la escasa solubilidad en algunas plantas, o por la obtención de flavonoides conjugados con polisacáridos o azúcares. Un ejemplo es la extracción de kaempferol-3-O-glucósido de la pared celular de *Picea abies* (Strack, Heulemann y Klinkott, 1988). Algunos flavonoides fueron extraídos directamente con metanol, y muchas veces fueron pre-extraídos de material vegetal previamente tratado con un álcali caliente. En este caso, los flavonoides parecen no estar ligados con la pectina y hemicelulosa, sino con la lignina.

En algunos trabajos con gimnospermas observados con microscopía de luz, la corteza presentó fluorescencia con $AlCl_3$ en secciones analizadas debido a la presencia de flavonoides verificados por cromatografía en capa fina. Los flavonoides constituidos están delimitados en la cutícula y en la región cutinizada de la pared celular (Gadek et al*.,* 1984 citado por Markham et al. 2000). Su localización en la pared celular ha sido propuesta sólo para los glucósidos de flavonoides de C*hysosplenium americanum* parcialmente metilados (Markham et al. 2000), con base en su localización por inmunofluorescencia. Markham et al. (2000) detectaron fluorescencia inducida por ácido difenilborico 2-aminoetil éster (reactivo de Naturestoff A o reactivo NA y/o Np) (Kartning y Göbel, 1996), para evidenciar la ubicación de flavonoides en la pared celular de tejido fresco.

Weiss, Mikolajewski, Peipp, Schmitt, Schmidt, Wray y Strack (1997) utilizaron otros compuestos (glutardialdehido embebido con glicolmetacrilato) para obtener fluorescencia natural en el material que se observó al microscopio. La excitación que pasó por las bandas del filtro fue de 330-380 nm y la emisión fue de 435 nm.

Markham et al. (2000) encontraron flavonoides en los pétalos de *Lisianthus,* localizados en la pared celular en la epidermis. Con el reactivo Np (Kartning y Göbel, 1996); los flavonoides dan un color naranja, por lo que en cortes anatómicos el color naranja corresponde a flavonoides libres y conjugados.

En el caso de materiales de *P. guajava*, no hay antecedentes que indiquen la localización anatómica de flavonoides. Por ello en este trabajo se planteó el objetivo de ubicar anatómicamente a flavonoles en hojas jóvenes y maduras, tallo joven y fruto.

Materiales y métodos

Con base en el método de Markham et al. (2000), las muestras fueron tomadas de material fresco, colectadas de árboles bajo invernadero del Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. Para hacer cortes transversales se utilizó un micrótomo manual, para un grosor de 30 micras en hoja joven, hoja madura, tallo joven, y fruto. A los cortes así obtenidos se les aplicó la solución saturada de NP con 10% de azúcar en solución acuosa durante 2 horas, y luego fueron montados en porta objetos. Se observaron con un microscopio invertido Axiovert 25 marca Zeiss, con un objetivo de 40 x, provisto con una lámpara HBO 50 220/240 V y un filtro número uno que emite 490 –520 nm. Como testigos se usaron muestras sin el reactivo NP.

Resultados y discusión

Las hojas jóvenes y las hojas maduras presentaron diferencias en la acumulación de flavonoles. La hoja madura presentó una franja fluorescente en el envés, en donde se cree que están presentes estos compuestos; también se encontró una ligera franja más delgada, con fluorescencia amarillo-naranja.

En la hoja joven sólo hubo fluorescencia naranja en la epidermis del haz, mientras que en las células de la epidermis del envés se encontró otro tipo de compuesto, que fluoreció de color violeta tenue. En los respectivos testigos sin la aplicación del NP no presentaron estas características en ambas epidermis (véase figura 1).

Este resultado indica que en las hojas jóvenes, la epidermis posee células almacenadoras de flavonoles, además de las glándulas que almacenan o sintetizan estos compuestos. La epidermis del envés da fluorescencia de diferente color, debido a diferencias en tipo y cantidad de flavonoles. Se puede resumir entonces que las hojas jóvenes presentan menores proporciones de flavonoides, como la quercetina o quercetina conjugada, lo que coincide con los resultados de Seshadri y Vasishta, (1965), quienes

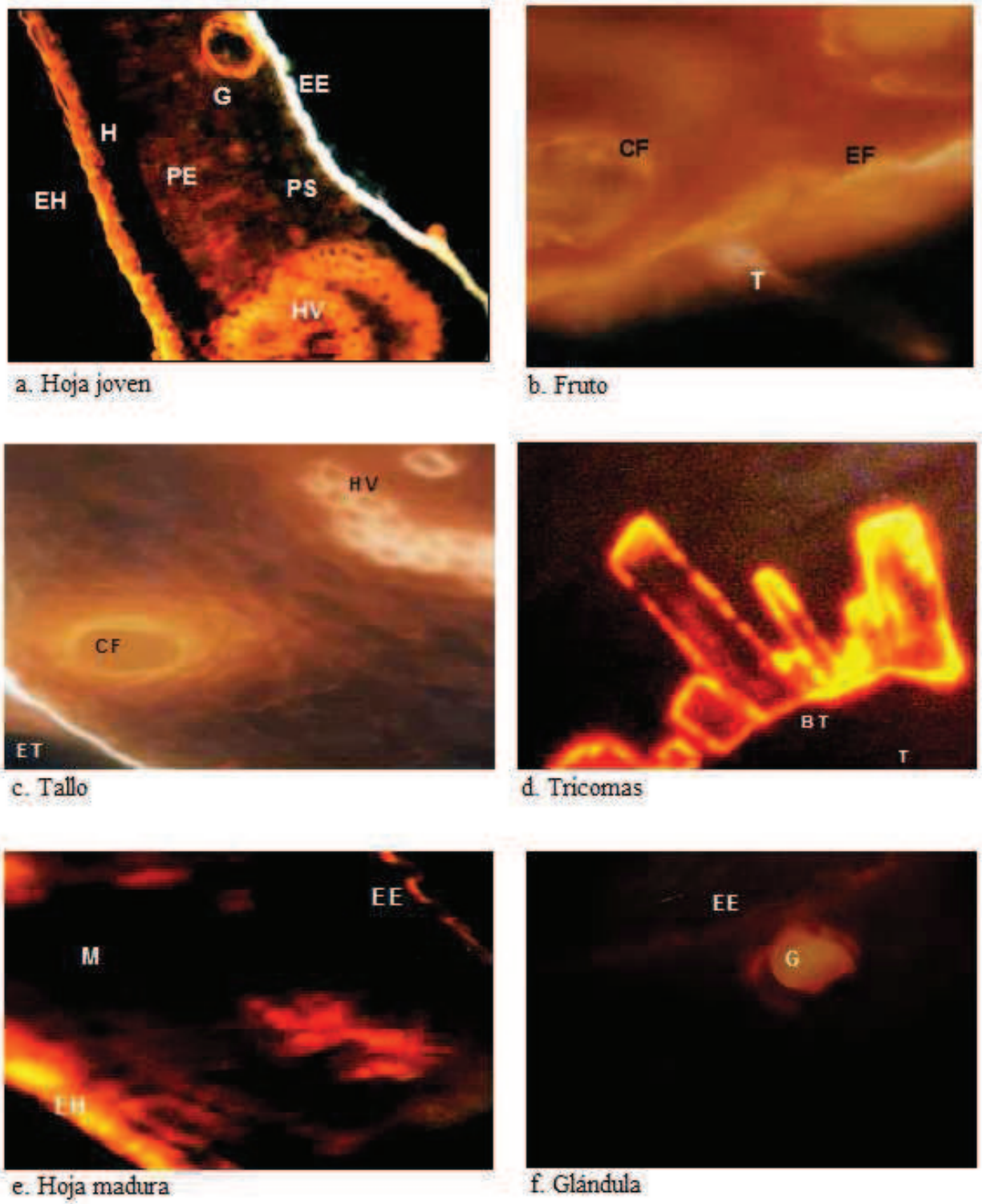

Figura 1. a). Hoja joven con fluorescencia en epidermis del haz (EH), epidermis del envés (EE), glándula (G), parénquima esponjoso (PS) y parénquima empalizado (PE); la parte que no presenta fluorescencia es la banda de la hipodermis (H). b). la fluorescencia se presenta en la epidermis del fruto (EF) y en círculos fluorescentes (CF) cercanos a la epidermis. c). en el tallo joven se presenta fluorescencia azul en la epidermis (ET) y fluorescencia naranja en círculos (CF) junto a la epidermis; en el protofloema se puede observar un conjunto de haces vasculares (HV). d). tricomas (T), la fluorescencia se presenta en bases de tricoma de tallo joven (BT). e). hoja madura presenta fluorescencia en la epidermis del haz (EH) y del envés (EE), además del mesó filo (M). f). glándula fluorescente (G) de hoja madura en junto

también detectaron estos flavonoles en hojas de guayaba.

El fruto presentó en la parte exterior de su epidermis, fluorescencia amarillo-naranja, que indica la presencia de flavonoides; hacia la parte interior, mostró círculos con fluorescencia, lo que coincide con la anatomía descrita por Esau (1977).

El tallo joven también presentó esta fluorescencia en los haces vasculares del protofloema, en su corteza nuevamente presentó la misma fluorescencia ya caracterizada en el envés de la hoja joven, lo que índica que en órganos jóvenes están presentes los flavonoides en espacios esquizógenos. Adicionalmente en un corte de este mismo tallo se encontró tricomas con la fluorescencia de naranja. Lo que coincide con Harborne y Williams (2000) quienes mencionan que estos tejidos protegen de alguna forma al material vegetal.

Conclusiones

De manera general podemos concluir que los flavonoles estan presente en mayor proporción en hoja madura que en hoja inmadura, porque en el envés presenta otro componente que presenta una fluorescencia lila.

Los flavonoides también están presentes en el protofloema del tallo, en glándulas de la epidermis, en tricomas y en epidermis de fruto.

Referencias

Bilyk, A., Cooper, L. P. y Sapers G. M. 1984. Varietal differences in distribution of quercetin and kaempferol in onion (*Allium cepa* L.) tissue [*Diferencias de variedades en la distribución de la quercetina y kaempferol en tejido de cebolla (Allium cepa L.)*]. *Journal of Food Chemistry,* 32, 274-276.

Conde E., Cadahía, E. y Garcia-Vallejo, M. C. (1997). Low molecular weight polyphenols in leaves of *Eucalyptus camaldulensis*, *E. globules* and *E. rudis* [*Bajo peso molecular de polifenoles en hojas de Eucalyptus camaldulensis, E. globules y E. rudis*]. *Phytochemicals analysis,* 8, 186-193.

Esau, K. (1977). *Anatomía vegetal*. Editorial Omega. Barcelona, España. 779p.

Harborne J. B. (1984). *Phytochemical methods* [*Métodos fitoquímicos*]. *C*hapman and Hall, London and New York, Second edition.

Harborne, J. B. y Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoids research since 1992 [*Avances de investigación en flavonides desde 1992*]. *Phytochemistry,* 55, 481-504.

Hrazdina, G., Marx, G. A. y Hoch, H. C. (1982). Distribution of secondary plant metabolites and their biosynthetic enzymes in pea (*Pisum sativum* L.) leaves [*Distribución de los metabolitos de plantas secundarias y sus enzimas biosintéticas en hojas de chícharo Pisum sativum L*]. *Plant physiology,* 70, 745-748.

Kartning, T. y Göbel, I. (1996). Effect of flourescence intensifiers on the flourodensitometric determination of flavones and flavonols after detection with diphenylboric acid 2-aminoethyl ester [*Efecto de intensificadores de fluorescencia en la determinación fluorodensimétrica de flavones y flavonoles después de la detección con ácido difenilbórico 2-aminoetíl ester*]. *Journal of Chromatrography A,* 740, 99-107.

Koes, R. E. y Quattrocchio, F. (1994). The flavonoid biosynthetic pathway: function and evolution [*La vía del flavonoide biosintético: function y evolución*]. *Bioassays,* 16, 123-132.

Markham, K. R., Ryan, K. G., Gould, S. K. y Rickards, K. G. (2000). Cell wall sited flavonoid in lisianthus flower petals [*Flavonoides situados en la pared celular de los pétalos de flor de lisianthus*]. *Phytochemistry* 54,681-687.

Seshadri, R.T. Vasishta, K. (1965). Polyphenols of the leaves of *Psidium guajava:* quercetin, guaijaverin, leucocyanidin and amritoside [*Polifenóles de las hojas de Psidium guajava: quercetina, guaijaverina, leucocyanidina y amritosida*]. *Phytochemistry,* 4 989-992.

Shirley, B. W. (1996). Flavonoid biosynthesis: new functions for old pathway [*Biosíntesis de flavonoide: Nuevas funciones para viejas vías*]. *Plant Science.* 1, 377-382.

Stafford, H. A. (1990). *Flavonoid metabolism* [*Metabolísmo del flavonoide*]. CRC press**,** Boca Raton, Florida. pp. 202-208.

Strack D., Heulemann, J. y Klinkott, E. S. (1988). Cell wall bound phenolics from Norway spruce (*Picea abies*) needles [*Fenólicos ligados a la pared celular de agujas de abeto rojo Picea abies*]. *Z. Nautrforschung,* 43, 37-41.

Weiss, M., Mikolajewski, S., Peipp, H., Schmitt, U., Schmidt, J., Wray, V. y Strack, D. (1997). Tissue-specific and development accumulation of phenylpropanoids in larch micorrhizae [*Tejido específico y desarrollo de acumulación de fenilpropanoides en micorrizas de alerce*]. *Plant physiology*. 114, 15-27.