

METABOLITOS SECUNDARIOS EN CUATRO CULTIVARES DE *Plumeria* sp. RELACIONES CON EL ÓRGANO Y EL AMBIENTE

Rosario E. Valera¹, Norberto M. Maciel de Sousa¹ y María Elena Sanabria¹

RESUMEN

Los metabolitos secundarios (MS) son moléculas sintetizadas en bajas concentraciones por las plantas que desempeñan un rol importante en la adaptación de las mismas al ambiente, y que depende de las condiciones internas y externas. En la familia Apocynaceae se ubica *Plumeria* sp., una planta cultivada como ornamental, que constituye una fuente de compuestos biológicamente activos, algunos de uso como fármacos. Se realizó un análisis fitoquímico mediante cromatografía de capa fina, en extractos etanólicos obtenidos de órganos aéreos y subterráneos de *P. pudica* "Biotipo V", *P. pudica* 'Bridal White', *P. obtusa* 'Singapore White' y el híbrido *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman', colectados en época de lluvia, transición y sequía, a partir de plantas cultivadas en el Posgrado de Agronomía, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, en Venezuela. La mayor concentración de alcaloides para todos los materiales se determinó en el tallo, en sequía, y además en transición, para *P. pudica* y *P. obtusa*; del mismo modo, los fenoles fueron más abundantes en raíz y en época de sequía. En el caso de los flavonoides, los valores más altos de concentración se obtuvieron en el tallo y en sequía, para casi todos los materiales, excepto para el híbrido, en el cual ocurrió en las hojas en esa misma época y en las inflorescencias, en transición. Las saponinas se determinaron, en todos los cultivares, a muy bajas concentraciones. La época de colecta fue un factor de importancia en la síntesis de los MS y concentración de éstos, las diferencias podrían relacionarse a factores de estrés, que influyen en la bioproducción.

Palabras clave adicionales: Alcaloides, fenoles, flavonoides, saponinas

ABSTRACT

Secondary metabolites in four cultivars of *Plumeria* sp. Relationships with the plant organs and the environment

Secondary metabolites (SM) are molecules synthesized in low concentrations by plants, playing an important role in their adaptation to the environment, which depends on internal and external conditions. In Apocynaceae, *Plumeria* sp. is a plant cultivated as an ornamental, constituting a source of biologically active compounds, some of which are used as drugs. A phytochemical analysis was performed using thin layer chromatography on ethanolic extracts obtained from aerial and underground organs of *P. pudica* 'Biotipo V', *P. pudica* 'Bridal White', *P. obtusa* 'Singapore White' and the hybrid *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman', collected in rainy, transition and drought seasons, from plants grown in the Agronomy School, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, in Venezuela. The highest concentration of alkaloids for all materials was determined, in the stem, in drought and also in transition, for *P. pudica* and *P. obtusa*. Similarly, phenols were more abundant, in roots, and in drought. In the case of flavonoids, the highest concentration values were obtained at the stem in drought, for almost all materials, except for the hybrid, in which it occurred in the leaves at the same time and in the inflorescences, in transition. Saponins were determined, in all cultivars, at very low concentrations. The time of collection was an important factor in the synthesis of the SM and concentration of these, the differences could be related to stressors, which influence bioproduction.

Additional keywords: Alkaloids, flavonoids, phenols, saponins

Editora asociada: Dra. Marina García

INTRODUCCIÓN

Las plantas destinan una cantidad significativa del carbono asimilado y de la energía, a la síntesis de una amplia variedad de moléculas orgánicas que no parecen tener una función directa en procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de

proteínas, carbohidratos o lípidos, denominadas como metabolitos secundarios-MS (Ávalos y Pérez, 2009).

La variación en la biosíntesis de los MS depende de las condicionantes intrínsecas de la planta (genotipo y ontogenia), además de factores extrínsecos, tales como clima (temperatura, luz, humedad y altitud), suelo (deficiencia de

Recibido: Noviembre 1, 2023

Aceptado: Junio 14, 2024

¹ Posgrado de Agronomía, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Cabudare, Lara, Venezuela. e-mail: rosariovalera@ucla.edu.ve (autor de correspondencia); norbertomaciel@ucla.edu.ve; mesanabria@ucla.edu.ve

nutrientes), ataque de organismos, fenología de la planta (Azcón y Talón, 2000) y efectos externos, asociados a condiciones de estrés. Atendiendo a la biosíntesis, los MS se separan en alcaloides, polifenoles, glicósidos terpénicos y esteroides (Marcano y Hasegawa, 2018). Los alcaloides, no se distribuyen uniformemente en las angiospermas, con una mayor frecuencia en dicotiledóneas (Oliveira et al., 2009; Avalos y Pérez, 2009).

La concentración de los fenoles en las plantas, incluyendo flavonoides y terpenos, es muy variable, lo que depende principalmente de la taxonomía (factores genéticos). El incremento de esta clase de compuestos en el vegetal, puede ser mayor o no significativo, en cultivares bajo condiciones de estrés por sequía, es más pronunciado en las plantas sensibles, que en las tolerantes y parecen ser marcadores en plantas, por el incremento de la concentración en verano, cuando estas son sometidas a altas temperaturas y sequía (Demiral y Türkan, 2005; Boscaiu et al., 2010; Gholami et al., 2012).

Las saponinas están ampliamente distribuidas en las plantas, con una gran diversidad estructural, reflejada en las diferentes propiedades biológicas, fisicoquímicas y toxicidad. Los factores abióticos, inducen la síntesis de MS en los órganos de las plantas, donde actúan en la protección química (Ramakrishna y Ravishankar, 2011). La síntesis de las saponinas, se ha visto afectada por la sequía en *Chenopodium quinoa*, disminuyendo su contenido y variando la concentración, según la intensidad del déficit hídrico (Hernández, 1997), una estrategia adaptativa en respuesta a los factores externos que conduce a la tolerancia al estrés abiótico (Aerts et al., 1991; Harborne, 1988; Gobbo y Lopes, 2007).

La familia Apocynaceae está representada en regiones subtropicales y tropicales, desde el nivel del mar hasta las montañas más altas y prefiriendo suelos secos (Moreira et al., 2004). *Nerium oleander*, *Allamanda catartica*, *Thevetia peruviana* y *Plumeria* sp., cultivadas como ornamentales en todo el mundo, constituyen una importante fuente de compuestos biológicamente activos, algunos son tóxicos y otros de uso como fármacos (Endress y Bruyns, 2000; Bihani, 2021).

En las plumerias, se han identificado plumerier, isoplumeride, fluvoplumericin y glicósido iridoides (Vijay et al., 2011; Shinde et

al., 2014). El tipo, concentración y el órgano de almacenamiento de estos compuestos, varió según el material. En el caso de *P. rubra*, Dos Reis (2009) aisló de esta especie, *P. rubra* fo. *acutifolia*, ácido urosólico, con mayor concentración en el mes de septiembre, época de floración en el hemisferio Sur; así mismo, los alcaloides también fueron determinados en *P. inodora* por Grignon et al. (2005) y Sanabria et al. (2014), determinando únicamente alcaloides en los órganos aéreos de siete biotipos de *P. pudica* en proporciones 3:2:1 (tallos, hojas y flores, respectivamente).

El objetivo de esta investigación fue realizar un análisis fitoquímico en cuatro materiales de *Plumeria* en función del órgano vegetal y de tres periodos del año o ambientes de desarrollo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del material experimental. Plantas adultas de un biotipo nativo (estado Lara, Venezuela) de *Plumeria pudica* "Biotipo V", *P. pudica* 'Bridal White', *P. obtusa* 'Singapore White' y *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele pa Bowman' cultivadas en el Posgrado de Agronomía de la Universidad Centrocidental Lisandro Alvarado, en Tarabana, estado Lara, a 489 msnm, 10° 01' 30" LN y 69° 16' 31" LW, con una precipitación promedio anual de 800 mm, temperatura promedio de 26 ± 5°C, humedad relativa entre 50 y 92 %, evaporación de 2.000 mm/año e insolación de 7,1 horas/sol. Las plantas se correspondieron con materiales que provenían de individuos propagados mediante estacas enraizadas y luego establecidas en un suelo franco arcillo-arenoso, del área destinada a la colección de plumerias. Se realizó el muestreo en tres épocas del año: lluvia (en octubre), transición (en julio) y sequía (en enero); durante esta última época recibieron un riego semanal.

Obtención del extracto etanólico. Se colectaron 150 g de cada uno de los siguientes órganos, plenamente desarrollados y de apariencia sana: hojas con peciolo de las ramas del último flujo de crecimiento, inflorescencias, tallos y raíces, provenientes de tres árboles de cada una de las especies ya señaladas, cuya altura varió con el material, entre 1,5 y 3,0 m de altura, en las tres épocas del año antes señaladas. Cada órgano, en fresco, se trituró por separado en una licuadora y

Valera et al. Metabolitos secundarios en *Plumeria* sp. Relaciones con órgano y ambiente

se maceró en alcohol etílico (96 %) por 12 horas. Posteriormente, se filtró a través de una gasa doble y con un rotoevaporador Brinkmann se obtuvo el extracto etanólico (EE), el cual se guardó en frascos ámbar a 10 °C, hasta la determinación y cuantificación de los grupos de MS. **Determinación y cuantificación de metabolitos secundarios en función del órgano y periodo.** La presencia o no de los grupos de MS en los EE de los órganos de los materiales de *Plumeria*, se determinó por cromatografía de capa fina ascendente, utilizando cromatofolios de sílica gel

Merck (2,5 cm x 7 cm). En cada cromatofolio se dispensaron 2 gotas de EE, equivalentes a 10 µL del crudo, a 0,7 cm de la base, y que luego se colocaron por separado en una cámara de cromatografía con el eluyente específico para cada grupo de MS (Cuadro 1). El EE se dejó ascender hasta 0,7 cm antes del borde superior del cromatofolio, se retiró y se dejó secar, para luego realizar el revelado respectivo según el grupo de MS a determinar atendiendo a la metodología de Marcano y Hasegawa (2018).

Cuadro 1. Eluyentes y métodos de revelado en la determinación de alcaloides, flavonoides y fenoles en extractos etanólicos en órganos de *Plumeria*

Metabolitos Secundarios	Relación	Eluyentes	Revelado
Alcaloides	9:2:1	N-butanol (99,5 %), ácido acético (99,7 %) y agua	Lámpara de luz ultravioleta (365 nm). Una coloración fluorescente amarillenta indicó la presencia.
Flavonoides	6:3,5:1	Benceno (99,8 %), ácido acético y agua	Lámpara de luz ultravioleta. Una coloración fluorescente blanca indicó la presencia.
Fenoles totales	9:1	Agua y ácido acético (99,7 %)	Cloruro férrico al 1 %. Una coloración marrón anaranjada fue indicativo de presencia.

Fuente: Marcano y Hasegawa (2018)

La cuantificación de los grupos de MS, alcaloides, fenoles totales y flavonoides, presentes en los distintos extractos foliares de los materiales de *Plumeria*, se realizó mediante la metodología de Vásquez et al. (2008) y utilizando las corridas cromatográficas obtenidas para la determinación de esta clase de compuestos. Una vez revelada la cromatografía y detectada la presencia del grupo de MS en el cromatofolio, se demarcó el área ocupada por este con un lápiz de grafito y con la ayuda de un sacabocado se extrajeron cinco discos de 0,4 mm de diámetro, se rasparon y se pesó la sílica gel, considerando el área conocida (ac) el contenido de MS + sílica + solvente; el resto de la mancha también fue raspada y se denominó como área desconocida (ad), que contenía los mismos componentes. Así mismo, igual número de discos fue obtenido de los cromatofolios testigo correspondientes y se les denotó como área testigo (at), la cual contenía únicamente sílica + solvente. Todas las áreas obtenidas fueron pesadas en una balanza analítica Ohaus Adventure, y los valores obtenidos se utilizaron para el cálculo del peso de

cada MS en 10,0 µl de extracto, utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Total MS (mg)} = \left[\frac{(\text{ad}) \times (\text{ac} - \text{at})}{\text{ac}} + (\text{ac} - \text{at}) \right] \times 100$$

Las saponinas, se determinaron utilizando la metodología de Cuéllar et al. (1999). Para ello, se tomó 1 mL del EE filtrado, al cual se añadió igual cantidad de metanol y 9 mL de agua destilada, por tubo agitándose vigorosamente por 30 segundos y dejando reposar durante 15 minutos. La presencia de una espuma sobrenadante, se tomó como el indicio de la presencia de estos MS en el EE y se midió con un vernier digital. La proporción se determinó de acuerdo con la altura (h) de la espuma sobrenadante, considerando la escala indicadora: negativa (0,0 mm), contenido muy bajo (0,1-5.0 mm), hasta muy alto (> 14 mm).

Tratamiento de los datos. Los grupos de MS fueron determinados en cada uno de los EE obtenidos de los órganos y cuantificados utilizando cinco réplicas; el diseño experimental fue un arreglo factorial, completamente al azar, correspondientes a cuatro órganos y determinados

los MS en tres épocas del año, con sus respectivas interacciones, para un total de doce.

Los tratamientos fueron sometidos al ANOVA y se establecieron comparaciones de medias de Tukey. Previamente, cuando fue procedente, los datos fueron transformados según $(x+0,5)^{1/2}$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Metabolitos secundarios en los órganos de *Plumeria* en diferentes épocas del año.

Alcaloides Los alcaloides se presentaron en todos los órganos de *P. rubra* x *obtusa* 'Mele Pa Bowman', *P. obtusa* 'Singapore White', *P. pudica* 'Bridal White', *P. pudica* "Biotipo V" y en las diferentes épocas de colecta (Cuadro 2). El ANOVA mostró diferencias altamente significativas para todos los tratamientos considerados.

La concentración de alcaloides varió entre las épocas de colecta y los órganos de los materiales. En el caso de la raíz, se encontraron las

concentraciones más bajas en las tres épocas del año. Durante la época de lluvia, los mayores valores de esta misma variable se ubicaron en el tallo y las menores, en las inflorescencias y las hojas. Con estos resultados se podría interpretar que la síntesis y el almacenamiento de este grupo de MS en los materiales de *Plumeria*, se regulan en el espacio (órganos) y en el tiempo (época), involucrando a diferentes órganos; sin especificar los tipos de células o tejidos como los laticíferos, involucrados en la producción de MS en Apocináceas (Martins et al., 2013) y en *Plumeria* (Murugan e Inamdar, 1987).

Adicionalmente y asumiendo que el lugar de síntesis de los alcaloides difiera del de almacenamiento, estos compuestos serían trasladados desde un sitio al otro, tal como ocurre en el tabaco, donde los alcaloides pirídicos sintetizados en las raíces son trasladados eficientemente por el xilema y acumulados en las hojas (Pakdeechanuan et al., 2012).

Cuadro 2. Cuantificación de alcaloides por órgano en *Plumeria* en tres épocas del año (mg MS·mL⁻¹)

Materiales Órgano	<i>P. rubra</i> x <i>P. obtusa</i> 'Mele Pa Bowman' ^{t1}	<i>P. obtusa</i> 'Singapore White' ^{t1}	<i>P. pudica</i> 'Bridal White' ^{t1}	<i>P. pudica</i> 'Biotipo V' ^{t1}
Interacción				
Ll x Raíz	25,42 c	82,54 cd	33,38 cde	137,84 d
Ll x Tallo	211,22 b	175,66 b	224,62 b	235,66 c
Ll x Hoja	236,22 b	41,62 d	151,62 bc	55,48 ef
Ll x Inflorescencia	39,76 c	58,70 d	35,82 cde	41,88 fg
T x Raíz	0,00 d	0,00 e	0,00 e	0,00 h
T x Tallo	212,19 b	1102,90 a	118,10 bcd	1235,50 a
T x Hoja	47,36 c	47,88 d	15,62 de	56,86 ef
T x Inflorescencia	43,56 c	135,50 bc	228,66 b	12,94 gh
S x Raíz	0,00 d	0,00 e	0,00 e	0,00 h
S x Tallo	913,90 a	1272,70 a	868,28 a	590,49 b
S x Hoja	62,38 c	75,37 cd	45,49 cde	71,79 ef
S x Inflorescencia	151,14 b	141,94 bc	193,46 b	103,97 de
Significancia	** ($P \leq 0,01$)	** ($P \leq 0,01$)	** ($P \leq 0,01$)	** ($P \leq 0,01$)
CV	19,72	12,45	32,15	12,66

Los valores de cada columna con la misma letra no presentan diferencias altamente significativas, según la prueba de Tukey. **t1:** Valores transformados $(x+0,5)^{1/2}$. Ll: lluvia, T: Transición, S: sequía.

Sin embargo, la distribución de los alcaloides determinada en *Plumeria* es contraria a lo

señalado para la herbácea *Rauwolfia serpentina*, también incluida en Apocynaceae y cultivada

Valera et al. Metabolitos secundarios en *Plumeria* sp. Relaciones con órgano y ambiente

como medicinal y en la cual las raíces mostraron el doble de concentración de estos mismos compuestos, que en las hojas (Verma y Verma, 2010). En tanto que Zaree et al. (2013), al comparar los alcaloides en diferentes órganos y estados fenológicos de *Nitrarias choberi*, (Zygophyllaceae), señalaron que el mayor contenido de éstos estaba en las hojas; mientras que por estadio correspondió a la fructificación.

En estudios realizados en tres especies de *Erithroxylum* (Erythroxylaceae), en Cuba, los compuestos nitrogenados no variaron entre éstas, pero si entre época de colecta de hojas, encontrándose los mismos en septiembre, no así en abril (Jiménez et al., 2004); este resultado avala la época como factor relacionado a su síntesis. Se puede inferir, que los alcaloides no se encontraron en la raíz de las plumerias en la época de sequía ni en transición, por estar regulados en su tiempo de biosíntesis, es decir que la misma ocurre cuando hay condiciones para el desarrollo de ese órgano,

la cual no ocurriría en sequía, pudiéndose suponer sobre una mayor producción bajo cultivo con un manejo adecuado del riego, que propicie el crecimiento. Sin embargo, para *Plumeria*, también debe tenerse en cuenta el comportamiento de las especies, por ser estas arbóreas con variantes en su deciduidad y el hábito de desarrollo cuyas zonas o flujos del crecimiento más recientes, corresponden a una consistencia suculenta en la porción distal de las ramas, que fue el área muestreada y que se correspondió con el órgano que presentó mayor presencia de alcaloides.

Fenoles totales

Los resultados de la determinación de la concentración de los fenoles totales por órgano de materiales de *Plumeria*, se muestran en el Cuadro 3. Se presentaron en todos los materiales, los órganos y épocas. El ANOVA para esta clase de MS detectó diferencias estadísticas altamente significativas, para todos los tratamientos considerados.

Cuadro 3. Cuantificación de fenoles totales por órgano de *Plumeria* en tres épocas del año (mg MS·mL⁻¹)

Materiales Órgano	<i>P. rubra</i> x <i>P. obtusa</i>	<i>P. obtusa</i>	<i>P. pudica</i>	<i>P. pudica</i>
	'Mele Pa Bowman' ^{t1}	'Singapore White' ^{t1}	'Bridal White' ^{t1}	“Biotipo V” ^{t1}
Interacción				
Ll x Raíz	164,26 fg	507,70 b	258,84 c	349,70 c
Ll x Tallo	203,66 efg	82,10 cd	129,34 cd	185,30 cd
Ll x Hoja	236,63 defg	189,60 c	120,50 d	123,90 de
Ll x Inflorescencia	216,08 efg	95,50 cd	131,78 cd	67,0 def
T x Raíz	417,06 bcde	41,80 d	264,58 c	358,70 c
T x Tallo	339,02 cdef	28,20 d	61,64 de	46,20 ef
T x Hoja	17,20 h	36,30 d	19,30 e	9,80 f
T x Inflorescencia	88,50 gh	117,40 cd	31,79 e	7,00 f
S x Raíz	614,23 abc	1338,60 a	970,06 a	1110,2 a
S x Tallo	752,18 a	634,90 b	622,16 b	719,67 a
S x Hoja	486,63 abcd	225,20 c	71,22 de	62,20 def
S x Inflorescencia	678,04 ab	227,70 c	678,43 ab	801,10 ab
Significancia	** ($P \leq 0,01$)	** ($P \leq 0,01$)	** ($P \leq 0,01$)	** ($P \leq 0,01$)
CV	12,7	22,29	15,9	17,98

Los valores de cada columna con la misma letra no presentan diferencias altamente significativas ($P \leq 0,01$), según la prueba de Tukey. t1: Valores transformados $(x+0,5)^{1/2}$. Ll: lluvia, T: Transición, S: sequía

La mayor concentración de fenoles se encontró en la época de sequía, para todos los materiales,

en raíz, a excepción de *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman', en la cual la mayor presencia de esta

clase de compuestos, se determinó en todos los órganos considerados.

En el tallo, las concentraciones decrecieron consecutivamente de *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman', *P. pudica* "Biotipo V", *P. pudica* 'Bridal White' a *P. obtusa* 'Singapore White'. Aunque en cantidad inferior a la de tallo, los cultivares presentaron, la misma secuencia para las inflorescencias, en tanto que en la hoja correspondió a *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman', seguida por *P. obtusa* 'Singapore White', *P. pudica* 'Bridal White' y *P. pudica* "Biotipo V".

Por época, la mayor concentración de fenoles correspondió a la sequía, seguida por el período de lluvia y la menor durante la transición.

En sequía, en *P. pudica* "Biotipo V", estuvo seguido por *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman', *P. obtusa* 'Singapore White' y *P. pudica* 'Bridal White', mientras que durante lluvia, la mayor concentración de estos MS, la exhibió *P. obtusa* 'Singapore White' seguido por *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman', *P. pudica* "Biotipo V" y *P. pudica*, resaltando que en sequía, en general, triplicaron a los valores obtenidos en época lluviosa. La interacción entre época y órgano mostró amplia diferencia en concentración. En los cultivares *P. pudica* 'Bridal White' y *P. pudica* "Biotipo V", las concentraciones más bajas de fenoles se presentaron en el período de transición.

Las concentraciones de fenoles encontrados en esta investigación para las plumerias, coincidieron con lo generalmente referido en la literatura, para diversas especies vegetales y variaron de igual manera en concentración, según los materiales (aspectos genéticos) y entre los órganos de la misma planta (aspectos ontogénicos), lo que podría relacionarse con factores abióticos, como la época de las colectas, demarcadas por la condición hídrica.

Atendiendo a Ozyigit (2008), los compuestos fenólicos son sintetizados en las hojas y luego transportados a otros órganos, por lo tanto, la cantidad total de éstos, es reportada como mayor en las hojas, que en los otros órganos. Por su parte, Pérez et al. (2014) señalaron que la mayor cuantificación de esta misma clase de compuestos, en el guayabo se da en hojas jóvenes, mientras que en las plumerias estudiadas fue hallada en las raíces, contradicción que podría inicialmente tratar

de explicarse por el mayor estado de madurez de las hojas muestreadas, siendo la síntesis de éstos, parte importante del desarrollo de dicho órgano, sin embargo, sería interesante considerar la caducifolia diferencial que estas plantas presentan.

Algunos fenoles juegan un importante rol en la tolerancia al estrés: en las plantas resistentes a la sequía producen un aumento neto de los niveles de estos compuestos, mientras que en las sensibles se produce un aumento inicial, seguido de una pérdida neta (Vilela et al., 2011).

Flavonoides

En el Cuadro 4 se presentan los resultados de la determinación de la concentración de flavonoides por órgano de materiales de *Plumeria*, durante tres épocas. Este grupo de MS se presentó en todos los órganos y el ANOVA para esta clase de compuestos detectó diferencias altamente significativas, tanto para éstos, como épocas y su interacción.

Al considerar la distribución de flavonoides en los diferentes órganos de los materiales de *Plumeria*, se evidenció que la mayor presencia fue principalmente en el tallo de *P. pudica* "Biotipo V", seguido por *P. pudica* 'Bridal White', *P. obtusa* 'Singapore White' y *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman'. Sin embargo, en este último cultivar, la mayor concentración fue determinada en la hoja, mientras que, para ese mismo órgano en *P. pudica* "Biotipo V", se presentó la menor.

Así mismo, el valor más bajo de concentración de flavonoides en los órganos de plumerias, en general, lo presentó la raíz, variando en *P. obtusa* 'Singapore' y *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman'. En tanto que, la inflorescencia, presentó valores intermedios en *P. pudica* "Biotipo V", seguido de *P. pudica* 'Bridal White', *P. obtusa* 'Singapore White' y *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman' y por época de muestreo, la mayor presencia de flavonoides correspondió a sequía, en todos los cultivares, mientras que las menores concentraciones fluctuaron según el cultivar en transición y lluvia.

Es de considerar que las concentraciones menores de flavonoides fueron muy variantes en cuanto al rango en relación con la época y órgano, ya que en la raíz correspondieron a la época de lluvia, en tanto que para el período de transición los valores más bajos se encontraron, tanto en hoja como en raíz y tallo (por ejemplo, en *P. obtusa* 'Singapore White').

Valera et al. Metabolitos secundarios en *Plumeria* sp. Relaciones con órgano y ambiente**Cuadro 4.** Concentración de flavonoides por órgano de *Plumeria* durante tres épocas del año (mg MS·mL⁻¹)

Materiales Órgano	<i>P. rubra</i> x <i>P. obtusa</i> 'Mele Pa Bowman' ^{t1}	<i>P. obtusa</i> 'Singapore White' ^{t1}	<i>P. pudica</i> 'Bridal White' ^{t1}	<i>P. pudica</i> 'Biotipo V' ^{t1}
Interacción				
Ll x Raíz	50,78 ef	37,54 ef	34,76 d	53,58 def
Ll x Tallo	141,32 bc	209,84 bc	152,10 bc	196,20 b
Ll x Hoja	57,36 ef	119,98 cd	60,86 cd	73,94 cde
Ll x Inflorescencia	37,64 f	76,32 de	34,90 d	54,38 def
T x Raíz	83,50 cdef	3,66 g	72,80 cd	44,40 ef
T x Tallo	63,41 def	17,88 fg	60,84 cd	123,18 c
T x Hoja	147,62 b	3,54 g	62,56 cd	28,26 f
T x Inflorescencia	294,34 a	82,17 de	112,90 cd	66,14 de
S x Raíz	116,20 bcd	72,98 de	90,74 cd	62,69 def
S x Tallo	90,27bcde	412,14 a	459,74 a	423,67 a
S x Hoja	397,54 a	272,20 b	389,87 ab	44,48 def
S x Inflorescencia	127,28 bc	234,60 b	96,25 cd	82,44 cd
Significancia	** ($P \leq 0,01$)	** ($P \leq 0,01$)	** ($P \leq 0,01$)	** ($P \leq 0,01$)
CV	17,37	17,63	26,85	12,35

Los valores de cada columna con la misma letra no presentan diferencias altamente significativas, según la prueba de Tukey. **t1**: Valores transformados $(x+0,5)^{1/2}$. Ll: lluvia, T: Transición, S: sequía

Tal cual como ocurrió en esta investigación con los materiales de *Plumeria*, la concentración de compuestos fenólicos totales y flavonoides acumulados en las plantas fueron muy variables y dependieron, principalmente, de factores genéticos; sin embargo, hay otros aspectos a considerar, como en el caso de *Lippia* (Verbenaceae), en la cual la cuantificación de fenoles, en tres poblaciones morfológicamente diferentes, no fue determinante para clasificarlas como especies distintas (Ruiz et al., 2005). Del mismo modo ocurrió entre especies y cultivares de rosa, en los cuales el contenido de estos compuestos fue mayor en las especies que en los cultivares (Cunja et al., 2014). Por ello, los perfiles fenólicos de las flores del género *Crataegus* han sido útiles para comparar y diferenciar especies de Europa, Asia y México, ya que se han identificado MS que sirven como marcadores taxonómicos, por sus patrones específicos, así como también por la variación en sus contenidos por región, lo que propicia reconocer nuevas variedades (García et al., 2012).

Los compuestos fenólicos, y entre estos, los flavonoides, están relacionados con el funcionamiento de las plantas y presentan amplia ubicuidad de hábitat (Calatayud, 2010) y modificación bajo condiciones de estreses ambientales, tales como el suelo, agua y aumento de temperatura (Boscaiu et al., 2010) o de manejo agronómico de las plantas (Chaves et al., 1993; 1997), que pueden afectar el metabolismo secundario promoviendo la síntesis de los flavonoides. De allí que es necesario que estos sean estudiados tanto en concentración o rango, en que estos varían, como en tipo de compuesto químico específico que prevalezca o se oculta, bajo factores controlados experimentalmente.

Al comparar los valores de concentración de compuestos fenólicos y flavonoides en materiales de plumerias, se evidenció que esta clase de compuestos en dos de los cultivares representaron concentraciones de casi la mitad del grupo fenólico, mientras que los otros apenas representaban un tercio y por ello cabía la posibilidad de que las variaciones encontradas

estuviesen asociadas a rangos de expresión fundamentados genéticamente

En las Figuras 1 y 2, se representan las variantes de flavonoides en proporción porcentual respecto a los fenoles totales (considerados aquí como el 100 % referencial) por órgano (Figura 1) y épocas (Figura 2), tal como han sido usados por Calatayud (2010).

En la Figura 1 puede observarse el patrón de distribución de los fenoles totales y flavonoides entre los órganos de los cuatro cultivares de plumeria, donde destaca a nivel de la raíz, la baja

cantidad porcentual que representan los flavonoides frente los fenoles totales (100 %), observándose además una tendencia a la disminución de estos compuestos cuando aumentan los fenoles totales, tal como se presentó en *P. obtusa* 'Singapore White' y *P. pudica* "Biotipo V". Para el tallo, *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman' tuvo valores, semejantes a los de sus raíces, mostrándose diferente a los demás cultivares, donde los flavonoides del tallo oscilaron entre 78,14 y 85,86 % en relación a los fenoles totales.

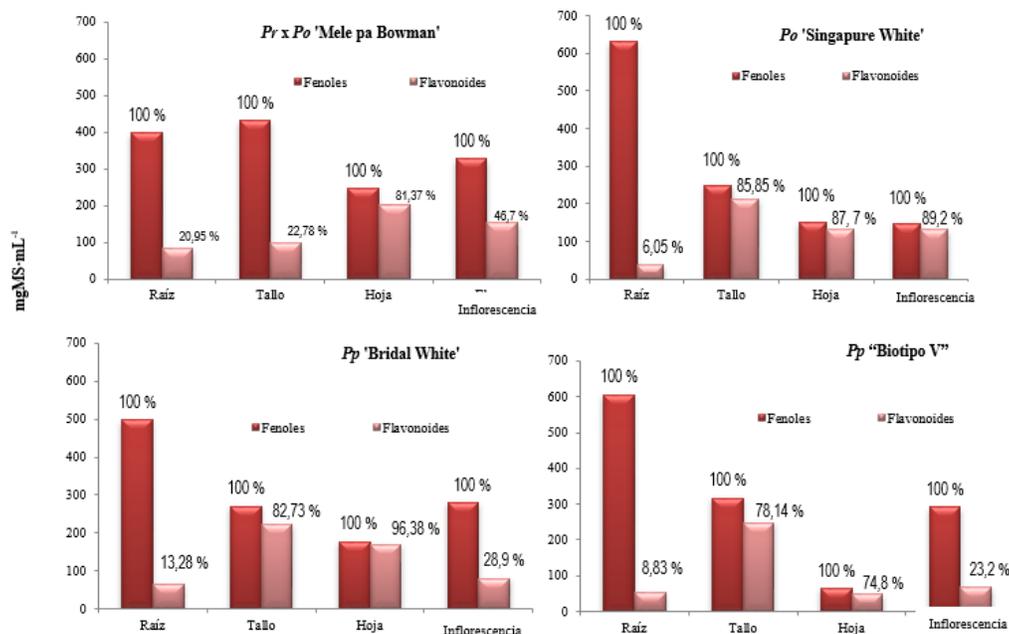


Figura 1. Comparación porcentual de flavonoides en relación a los fenoles totales (100 %) por órgano (raíz, tallo, hoja e inflorescencia) en cuatro cultivares de *Plumeria*: *P. pudica* "Biotipo V" (*Pp*), *P. pudica* 'Bridal White' (*Pp*), *P. obtusa* 'Singapore White' (*Po*) y *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman' (*Pr x Po*)

En la hoja, donde fue determinada la menor concentración de fenoles totales, los flavonoides mostraron mayor relación porcentual, siendo ésta muy similar en proporción entre los cultivares, no así en concentración.

La proporción de los flavonoides en las inflorescencias divergen entre 23,20 y 89,20 %; llamando la atención que para ambos cultivares de *P. pudica* "Biotipo V" este órgano presentó un patrón entre fenoles y flavonoides semejante en proporción (23,20 a 28,90 %) y concentración (67,65 y 81,35 mgMS·mL⁻¹ EE). El híbrido *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman', además de

exhibir una distribución de fenoles totales más equilibrada entre los diferentes órganos de la planta (a excepción de la hoja), también presentó a una relación de flavonoides menos variable. El cultivar *P. pudica* 'Bridal White' (cuasi-siempre verde de *P. pudica* "Biotipo V"), fue el que más se le aproximó.

Los compuestos fenólicos y flavonoides, por su estructura química, desempeñan un papel importante en la fisiología de las plantas, señalándose como los responsables del buen funcionamiento de las mismas, las protegen contra agentes agresores externos, como

la radiación UV, microorganismos y animales herbívoros o son importantes para el desarrollo, aunado a esto, tienen importancia farmacológica y medicinal.

En la Figura 2 puede observarse para las épocas, el patrón de distribución por cultivar de los fenoles totales y flavonoides, donde resalta la diferencia entre la época de sequía con mayor concentración de fenoles totales (585,47 a 673,25 mgMS·mL⁻¹ EE) frente a las otras dos épocas (fluctuando entre 55,94 a 218,70 mgMS·mL⁻¹

EE). Aun cuando las concentraciones de fenoles totales entre los diferentes cultivares de *Plumeria*, en sequía fueron bastante próximas, la relación porcentual de los flavonoides muestra un patrón disímil, donde los cultivares de *P. pudica* presentan un valor porcentual relativo de flavonoides entre 22,77 y 28,89 %, frente a *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman' y *P. obtusa* 'Singapore White' que fueron 40,88 y 44,28 %, respectivamente.

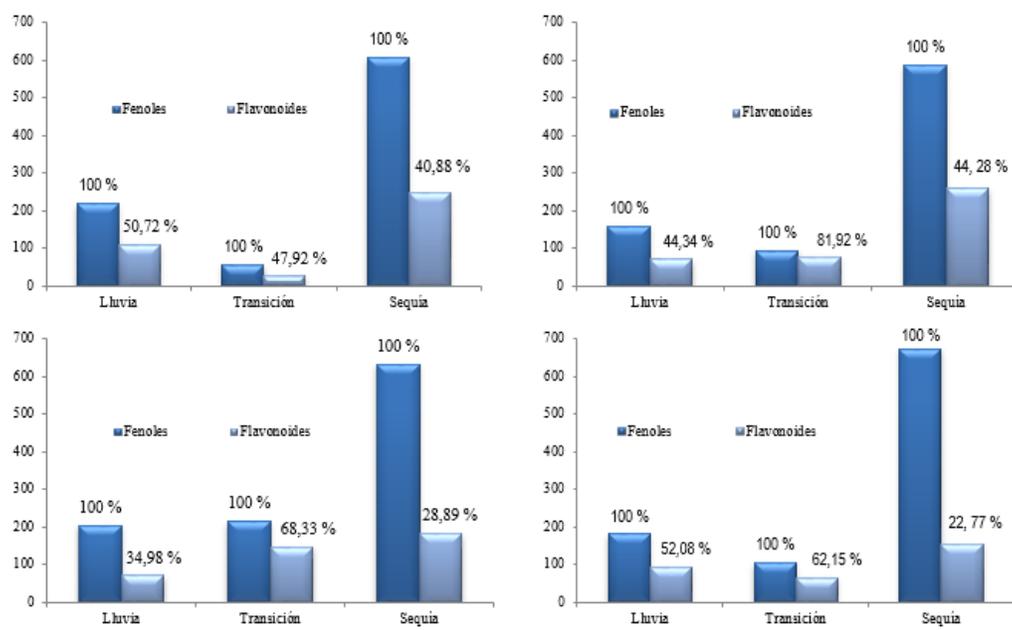


Figura 2. Comparación porcentual de flavonoides en relación a los fenoles totales (100 %) durante épocas de lluvia, transición y sequía en cuatro cultivares de *Plumeria*: *P. pudica* "Biotipo V" (*Pp*), *P. pudica* 'Bridal White' (*Pp*), *P. obtusa* 'Singapore White' (*Po*) y *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman' (*Pr* x *Po*)

Si se comparan los períodos bajo estudio, la mayor variante en flavonoides ocurrió en *P. pudica* "Biotipo V", que varió entre 52,08 % en lluvia a 22,77 % en sequía, siendo este un material nativo de marcada caducifolia, que no ha sido sujeto de manipulación hortícola como *P. pudica* 'Bridal White' (el cual varió de 34,98 a 28,89 %), *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman' (50,72 a 40,88 %) y *P. obtusa* 'Singapore White' (44,34 a 44,28 %).

A nivel de órganos, la comparación entre flavonoides y fenoles totales atendiendo a la época varió con la especie o cultivar similar, considerando apenas el valor promedio de las colectas. Pudiese especularse que con base a la

proporción relativa (%) de flavonoides/ fenoles totales, los valores podrían ser considerados, atendiendo a Calatayud (2010), como intermedios.

Dada la poca diferencia entre especies o cultivares, la hoja sería el órgano menos apropiado para segregarlos, en tanto que a nivel de la inflorescencia sí pudiese ser un parámetro a ser explorado como indicador para separar al menos los dos cultivares de *P. pudica* de aquellos donde *P. obtusa* es parental.

En las inflorescencias, durante la época de sequía, se observaron porcentajes de flavonoides/ fenoles totales, diferentes, entre los cultivares descendientes *P. pudica* "Biotipo V", con menores valores que los de *P. obtusa*, mientras que, en

época de lluvia, los de menores concentraciones mostraron una mayor diferencia en cuanto a esta relación porcentual. Por ello, el considerar los flavonoides durante época de sequía, que es cuando presentan la mayor concentración de los fenoles totales, podrían ser mejor indicadores de la expresión genética del material.

Saponinas Los valores de concentración de saponinas, determinados en los cultivares de *Plumeria* por órgano durante las tres épocas, así como la interacción del órgano x época. El ANOVA para estas detectó diferencias estadísticas, para la mayoría de los tratamientos considerados, exceptuando a *P. pudica* 'Bridal White' y en lo correspondiente al mismo en órgano en *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman'.

Según la escala utilizada, las saponinas se consideraron de muy baja concentración, al variar por órgano entre (1,35 a 2,7 y época (1,46 y 3,11 mm) cuando se obvia el cultivar. En los extractos de las inflorescencias la espuma sobrenadante presentó valores de 1,69 a 2,08 mm, similares a los que ocurrieron en la época de lluvia (1,66 a 2,02 mm), en tanto que la mayor correspondió a sequía (2,34 a 3,11 mm). Cuando se analizan las interacciones (órgano x época), se observó cómo los valores fluctuaron mucho más, variando entre 1,24 y 4,10 mm, esto cuando se descarta el caso en que no fue detectada espuma y que correspondió a la hoja en época de sequía para el *P. pudica* "Biotipo V".

La presencia de saponinas en los distintos órganos en las épocas de colecta de *Plumeria* era de esperarse, por cuanto estas se encuentran en diferentes concentraciones disponibles en raíces, corteza, hojas o semillas de más de 100 familias (Mena et al., 2015), como glucósidos triterpenoides en las dicotiledóneas (Hernández, 1997) y consideradas como defensas constitutivas de las plantas y su concentración podría aumentar en respuesta a un estímulo (Morrissey et al., 1999).

En relación a los grupos de MS determinados en los materiales de *Plumeria*, se evidenciaron variaciones en cuanto a la concentración, las cuales dependieron del órgano y la época del año.

Para los órganos de plumerias, la época de colecta fue factor de importancia en la síntesis de los grupos de MS, ya que el grupo fitoquímico y la cantidad de éstos no fueron constantes entre los

períodos o épocas, presentando diferencias que podrían relacionarse a factores críticos o de estrés, que influyen en la bioproducción, como lo sería la condición hídrica, y probablemente la temperatura y la radiación, como lo mencionaron Gobbo y Lopes (2007).

Al estar las plumerias bajo condicionantes abióticas estresantes, alguno de los grupos de MS, tal como fenoles totales, flavonoides y alcaloides al estar relacionados a actividades biológicas específicas o etapas de desarrollo de la especie o cultivar, exhiben más o menos variación en cuanto a presencia o ausencia y concentración o balance que podrían permitir si se usan procedimientos específicos o controlados y mediante análisis pertinentes poder caracterizar y diferenciar el crecimiento y fases del desarrollo en estas especies perennes.

CONCLUSIONES

Los grupos de MS sintetizados en cuatro materiales plumerias mostraron variaciones en cuanto a la presencia y concentración de alcaloides, fenoles totales, flavonoides y saponinas, además de que la especie o cultivar, atienden a la época de la colecta y al órgano evaluado.

La mayor concentración de alcaloides se determinó en el tallo en sequía, excepto en *P. pudica* "Biotipo V" y *P. obtusa* 'Singapore White', en este mismo órgano pero en transición. Para el caso de los fenoles totales las mayores concentraciones se encontraron en raíz y sequía, para todos materiales y *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman' además de este órgano, también se encontró en tallo. En cuanto a los flavonoides, la mayor concentración se observó en tallo para todos los materiales, y además, *P. rubra* x *P. obtusa* 'Mele Pa Bowman' en hoja. Aunque, las saponinas estuvieron presentes en todos los cultivares, órganos y épocas, los valores fueron muy bajos en la escala de apreciación del método usado.

La época de colecta fue factor de importancia en la síntesis de los grupos de MS, ya que el grupo fitoquímico y la concentración de éstos, no fueron constantes en los órganos de las plantas entre los períodos o épocas, presentando diferencias que podrían relacionarse a factores críticos o de estrés, que influyeron en su bioproducción.

AGRADECIMIENTO

Al CDCHT de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado por el financiamiento de esta investigación a través del proyecto 002AG2013.

LITERATURA CITADA

- Aerts, R.J., W. Snoeijer, E.V. Meijden y R. Verpoorte. 1991. Allelopathic inhibition of seed germination by *Cinchona* alkaloids. *Phytochemistry* 30: 2947-2951.
- Avalos-García, A. y E. Pérez-Urria. 2009. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. Serie Fisiología Vegetal 2(3): 119-145.
- Azcón-Bieto, J. y M. Talón. 2000. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Primera edición. Interamericana, MG Graw-Hill. Madrid. pp. 169-171.
- Bihani, T. 2021. *Plumeria rubra* L. A review on its ethnopharmacological, morphological, phytochemical, pharmacological and toxicological studies. *J Ethnopharmacol*. 10(264): 113291.
- Boscaiu, M., M. Sánchez, I. Bautista, P. Donat, A. Lidon, J. Llinares, C. Llul, O. Mayoral y O. Vicente. 2010. Phenolic compounds as stress markers in plants from gypsum habitats. *Bulletin UASVM Horticulture* 67(1): 44-49.
- Calatayud-Vaello, P. 2010. Compuestos fenólicos y flavonoides como marcadores bioquímicos de la respuesta a estrés abiótico en plantas tolerantes. Trabajo final Lic. en Estudios Ambientales. Universidad Politécnica de Valencia y Escuela Politécnica Superior de Gandia. 97p.
- Chaves, N., J. Escudero y C. Gutiérrez-Merino. 1993. Seasonal variation of exudates of *Cistus ladanifer*. *J. Chem. Ecol.* 19: 2577-2591.
- Chaves, N., L. Escudero y C. Gutiérrez-Merino. 1997. Role ecological variables in the seasonal variation of flavonoid content of *Cistus ladanifer* exudate. *J. Agric. Food Chem.* 45: 579-604.
- Cuéllar, A., I. Márquez, J. Hernández y A. Alemán. 1999. Estudio fitoquímico de la especie *Hibiscus elatus* w. *Revista Cubana de Farmacia* 33(2): 127-131.
- Cunja, V., M. Mikulic-Petkovsek, F. Stampar y V. Schmitzer. 2014. Compound identification of selected Rose species and cultivars: an insight to petal and leaf phenolic profiles. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 139(2): 157-166.
- Demiral, T. y I. Türkan. 2005. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany* 53(3): 247-257.
- Dos Reis, R. 2009. Extração e identificação do ácido ursólico. *Trabalho de Conclusão de Curso em Tecnologia em Produção de Fármacos*. UEZO. Rio de Janeiro. 52 p.
- Endress, M.E. y P.V. Bruyns. 2000. A revised classification of Apocynaceae. *Bot. Rev.* 66: 1-56.
- García-Mateos, R., L. Aguilar-Santelises, M. Soto-Hernández, R. Nieto-Angel y G. Kite. 2012. Compuestos fenólicos totales, flavonoides y actividad antioxidante en las flores de *Crataegus spp.* de México. *Agrociencia* 46(7): 651-662.
- Gholami, M., M. Rahemi y S. Rastegar. 2012. of rapid screening methods for detecting drought tolerant cultivars of fig (*Ficus carica* L.) *Scientia Horticulturae* 143: 7-14.
- Gobbo-Neto, L. y N. Lopes. 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim. Nova* 30(2): 374-381.
- Grignon-Dubois, M., B. Rezzonico, A. Usubillaga y L. Vojas. 2005. Isolation of Plumieride from *Plumeria inodora*. *Chemistry of Natural Compounds* 41: 730-731
- Harborne, J. B. 1988. *Introduction to Ecological Biochemistry*. London: Academic Press. 318pp.
- Hernández, R. 1997. Obtención de crudos de saponinas hipocolesteromizantes del *Chenopodium quinoa* Willd. *Rev. Cub. Med. Mil.* 26(1): 55-62.

20. Jiménez-Alemán, N., A. Gonzalez-Laurant, S. Pietro-González, J. Molina-Jones y A. Urquiola-Cruz. 2004. Evaluación fitoquímica de tres especies de *Erythroxylum*. Revista Cubana de Plantas Medicinales 9(2): 1-7.
21. Marcano, D. y M. Hasegawa. 2018. Fitoquímica Orgánica. Tercera edición (digital). Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH), Universidad Central de Venezuela. Caracas. 576 p. <https://n9.cl/37ao0> (consulta de abril 30, 2024).
22. Martins, F.M., A.A.S. Mascarenhas, T.P. Macedo y I.L. Cunha-Neto. 2013. Estruturas secretoras em órgãos vegetativos e florais de *Secondatia densiflora* A. DC. (Apocynaceae-Apocynoideae- Odontadenieae). Rev. Bras. Pl. Med. Botucatu 15(1): 13-24.
23. Mena-Valdés, L., B. Tamargo-Santos, E. Salas-Olivet, L.E. Plaza-Paredes, Y. Blanco-Hernández, A. Otero-González y G. Sierra-González. 2015. Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de *Sapindus saponaria* L. (jaboncillo). Revista Cubana de Plantas Medicinales 20(1):106-116.
24. Moreira, F., C. Ferreira, J. Fontella y V. Gonçalves-Esteves. 2004. Polianotaxonomía de especies de Apocynaceae ocorrentes na Restinga de Carapebus. Acta Bot. Bras., 18. Carapebus, RJ, Brasil. Acta bot. bras. 18(4): 711-721.
25. Morrissey, J.P. y A.E. Osbourn. 1999. Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis. Microbiology and Molecular Biology Reviews 63(3): 708-724.
26. Murugan, V. y J. A. Inamdar. 1987. Organographic distribution, structure and ontogeny of laticifers in *Plumeria alba* Linn. Proc. Indian Acad. Sci. 97(1): 25-31.
27. Oliveira, V.B., M.S. M. Freitas, L. Mathias, Braz-Filho, R. y I.J.C. Vieira. 2009. Atividade biológica e alcaloides indólicos do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae): uma revisão. Rev. Bras. Pl. Med. 11(1): 92-99.
28. Ozyigit, I. I. 2008. Phenolic changes during *in vitro* organogenesis of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) shoot tips. Afr. J. Biotechnol. 7:1145-1150.
29. Pakdeechnuan, P., T. Shoji y T. Hashimoto. 2012. Root-to-shoot translocation of alkaloids is dominantly suppressed in *Nicotiana glauca*. Plant Cell Physiol. 53(7): 1247-1254.
30. Pérez-Pérez, E., G. Ettiene, M. Marín, A. Casassa-Padrón, N. Silva, J. Raga et al. 2014. Determinación de fenoles y flavonoides totales en totales en hojas de guayabo (*Psidium guajava* L.). Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia (LUZ) 31: 60-77.
31. Ramakrishna, A. y G.A. Ravishankar. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant Signaling & Behavior 6(11): 1720-1731.
32. Ruiz-Maqueda, M.L., S.O. Mendoza-Díaz y J. Zavala-Nigoa. 2005. Determinación de compuestos fenólicos de tres poblaciones de orégano (*Lippia graveolens* Kunt). Memorias Programas Séptimo Verano de la Ciencia de la Región Centro y Cuarto Verano de la Ciencia. Universidad Autónoma de Querétaro. Memoria N° 2 y 30: 5 p.
33. Sanabria, M.E., R. Infante, R. Valera y N. Maciel. 2014. Metabolitos secundarios en siete biotipos de *Plumeria pudica* en el estado Lara, Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia (LUZ) 30 (Supl. 1). 31: 423-434.
34. Shinde, P.R., P.S. Patil y V.A. Bairagi. 2014. Phytopharmacological review of *Plumeria* species. Sch. Acad. J. Pharm. 3(2): 217-227.
35. Vásquez, C., O. Aponte, J. Morales, M.E. Sanabria y G. García. 2008. Biological studies of Oligonychuspuniciae (Acari: Tetranychidae) on grapevine cultivars. Experimental and Applied Acarology 45: 59-69.
36. Verma, K.C. y S.K. Verma. 2010. Alcaloides analysis in root and leaf fractions of *Sarpagandha* (*Rauwolfia serpentina*). Agric. Sci. Digest. 30(2): 133-135.
37. Vijay-alakshmi, A., V. Ravichandiran, M. Velraj, S. Hemalatha, G. Sudharani y S. Jayakumari. 2011. Anti-anaphylactic and anti-inflammatory activities of a bioactive alkaloid from the root bark of *Plumeria*

- acutifolia* Poir. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 1(5): 401-405.
38. Vilela, A.E., L. González-Paleo y D.A. Ravetta. 2011. Metabolismo secundario de plantas leñosas de zonas áridas: mecanismos de producción, funciones y posibilidades de aprovechamiento. Ecología Austral 21: 317-32.
39. Zaree, R., M. Farhadi, Z. Mohammdzadeh y G.R. Goudarzi. 2013. Extraction and comparison of alkaloids in different organs during different phenological periods of *Nitrarias chobe*. Annals of Biological Research 4(2): 130-135.

