

# VARIACIÓN DEL CONTENIDO DE FLAVONOIDES EN HOJAS DE GUAYABA EN CONDICIONES DE ESTRÉS

D. Vargas-Álvarez<sup>1</sup>; M. Soto-Hernández<sup>2†</sup>; V. A. González-Hernández<sup>1</sup>;  
E. M. Engleman<sup>2</sup>; Á. Martínez-Garza<sup>3†</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, Colegio de Postgraduados,

Carretera México-Texcoco, km 36.5, Montecillo, Estado de México. C. P. 56230. MÉXICO.

<sup>2</sup>Instituto de Recursos Naturales, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco, km 36.5,  
Montecillo, Estado de México. C. P. 56230. MÉXICO. Correo-e: msoto@colpos.mx (<sup>†</sup>Autor responsable)

<sup>3</sup>Instituto de Socio-Economía e Informática, Colegio de Postgraduados,  
Carretera México-Texcoco, km 36.5, Montecillo, Estado de México. C. P. 56230. MÉXICO.

## RESUMEN

En esta investigación, se evaluó por cromatografía líquida de alta resolución el contenido de algunos flavonoides en hojas de guayabo con respecto a la defoliación, sequía y poda. La defoliación en los árboles provocó el incremento de miricetina de 59 a 128 mg·kg<sup>-1</sup>, quercetina de 945 a 1707 mg·kg<sup>-1</sup> y kaempferol de 44 a 57 mg·kg<sup>-1</sup>. La sequía incrementó la luteolina de 33 a 89 mg·kg<sup>-1</sup>. La poda incrementó la miricetina de 54 a 64 mg·kg<sup>-1</sup> y quercetina de 850 a 1042 mg·kg<sup>-1</sup>. Los árboles de guayaba alteran su composición de miricetina, quercetina, kaempferol y luteolina con el estrés de defoliación, sequía y poda.

**PALABRAS CLAVE ADICIONALES:** (*Psidium guajava* L.) flavonoides, quercetina, defoliación, sequía, poda

## VARIATION IN FLAVONOID CONTENT OF GUAVA LEAVES UNDER STRESS CONDITIONS

### ABSTRACT

In this research, it was used high resolution liquid chromatography to evaluate the content of several flavonoids in guava leaves from trees under defoliation, drought, and pruning. Tree defoliation caused increases from 59 to 128 mg·kg<sup>-1</sup> in miricetin, from 945 to 128 mg·kg<sup>-1</sup>, of quercetin, and from 44 to 57 mg·kg<sup>-1</sup> of kaempferol. Drought increased luteolin from 33 to 89 mg·kg<sup>-1</sup>. Pruning increased miricetin from 54 to 64 mg·kg<sup>-1</sup> and quercetin from 850 to 1042 mg·kg<sup>-1</sup>. Guava trees alter their composition of miricetin, quercetin, kaempferol and luteolin from stress caused by defoliation, drought, and pruning.

**ADDITIONAL KEY WORDS:** *Psidium guajava* L., flavonoids, quercetin, defoliation, drought, pruning.

### INTRODUCCIÓN

Los flavonoides han sido ampliamente estudiados debido a su importancia biológica. Trabajos recientes en *Cistus ladanifer* encontraron que la época de mayor concentración de flavonoides es en verano (Chaves *et al.*, 1993; 1997), por otro lado se ha tratado de inducir la síntesis de estos compuestos mediante el uso de rayos UV (Lancaster *et al.*, 2000; Ray y Lancaster, 2001), estrés de nitrógeno (Sterwart *et al.*, 2001) y manejo en campo como defoliación (Keinanen *et al.*, 1999; Laitenen *et al.*, 2000). La sequía también puede estar relacionada con biosíntesis de estos compuestos, como ocurre con la acumulación de

ceras en la superficie de la hoja. (Ramanjulu y Bartels, 2002).

Las plantas responden a variaciones ambientales, como las causadas por la época del año, fertilización, y a daños por plagas y enfermedades (Chaves y Escudero, 1999), lo que influye en la producción de metabolitos secundarios que regulan la actividad metabólica (Watterman y Mole, 1989). Según Keinanen *et al.* (1999), la defoliación afecta el contenido de flavonas pero no de flavonoles, pero Laitenen *et al.* (2000) encontraron variación de tipos y cantidades de flavonoides en diferentes estados fenológicos de la planta. Por ello, el manejo agronómico de las plantas puede afectar el metabolismo secundario

que promueve la síntesis de flavonoides (Chaves y Escudero *et al.*, 1993; 1997).

En guayaba, los estudios en el área de manejo en campo han sido escasos, aun cuando es conocido que la guayaba contiene flavonoides como la quercetina (Seshadri y Vasishta, 1965; Míean y Mohamed, 2001). Dicho compuesto forma parte de los flavonoides, los cuales se encuentran relacionados con la protección de las plantas de plagas (Valette *et al.* 1998.), defoliación (Laitinen *et al.* 2000) y luz UV (Jordan, 2002). Por otro lado, los flavonoles y las flavonas han sido motivo de interés por su actividad antioxidante y medicinal en humanos. El manejo que regularmente se da a los árboles de cualquier cultivo con el objeto de mejorar e incrementar tanto calidad y productividad, la mayoría de las veces inherente a la estructura física del árbol, sin embargo, algunos manejos como la poda, sequía y defoliación causan daño físico y fisiológico, por consiguiente los fenoles se ha relacionado con algunos de estos eventos incrementando su concentración. En la presente investigación, el objetivo fue determinar la variación de los contenidos de flavonoides en hojas de árboles de guayabo sometidos a estrés por defoliación, sequía y poda.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de hoja de guayaba se recolectaron en Coatepec de Harinas, Estado de México, México.

Los tratamientos fueron aplicados para cada uno de los experimentos siguientes: para el tratamiento de defoliación, las muestras se recolectaron durante un año en dos huertas, una defoliada al 100 % el 7 de diciembre del 2000 con urea al 13 % y la otra sin defoliar; el periodo de sequía se evaluó un lote de árboles con riego de microaspersión de 40 litros·h<sup>-1</sup> por árbol y el lote sin riego, ambos de febrero a mayo y para la evaluación del efecto de poda se tomó un lote de árboles y se muestreó cuatro meses antes y después de la poda. La poda se realizó el 2 de junio.

Los árboles eran de cuatro años de edad, una rama se tomó de muestra del lado poniente de la parte superior del árbol, que representaba el 30 % del árbol más menos el 5 %. Las hojas maduras fueron llevadas a secado en una estufa con aire forzado a 60 °C por 72 horas.

Las muestras se tomaron mensualmente por triplicado, para luego analizarlas por medio de la comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

Se tomaron 0.25 g de hojas secas previamente molidas, se le adicionaron 25 ml de HCl 1.2 M en metanol acuoso a 50 %, la mezcla se hidrolizó por 2 h a reflujo a 98 °C. La solución se filtró y aforó a 250 ml con agua acidulada (pH 2.5, con ácido trifluoroacético). Se tomó una alícuota

de 50 ml para el análisis de cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR), según en el método descrito por Crozier *et al.* (1997), con un cromatógrafo Agilent Technologies dotado con detector de arreglo de diodos, columna hypersil ODS de 125 mm de longitud y 4mm de diámetro interno y 5 micrómetros de tamaño de partícula; las lecturas se hicieron a una longitud de onda de 365 nm, con un flujo de 1.5 ml·min<sup>-1</sup> y con un gradiente isocrático 65:35 de agua-metanol. Se usó agua acidulada a pH 2.5 con ácido trifluoroacético.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La defoliación del guayabo aumentó significativamente los contenidos foliares de miricetina (116 %), quercetina (81 %) y kaempferol (29 %), con respecto al testigo (Cuadro 1). Esto sugiere que el daño ocasionado por la defoliación acelera el metabolismo de defensa del árbol que conduce a la acumulación de flavonoles. Aun cuando la fuente de asimilados (hoja) es deficiente por efecto de la defoliación, la planta activa sus enzimas del metabolismo secundario que producen estos compuestos. También es posible que la restringida área foliar permita pasar más luz hacia el interior del árbol y así estimular la síntesis de estos metabolitos, como se observó en *Betula pendula* (Laitinen *et al.*, 2000). Al defoliar el árbol de guayaba se promueve también la floración y producción de frutos (Singh *et al.*, 1994; Shigeura *et al.*, 1975); la floración trae consigo la producción de flavonoides (Lemberkovics *et al.*, 1996), porque éstos forman parte del desarrollo del tubo polínico (Harborne, 1984).

**CUADRO 1.** Efecto de la defoliación en el contenido (mg·kg<sup>-1</sup>) de flavonoides en hojas de guayabo.

Tratamiento	Miricetina	Quercetina	Luteolina	Kaempferol
Testigo	59.31 b <sup>2</sup>	945.1 b	42.21 a	44.07 b
Defoliación	128.09 a	1,707.2 a	29.75 a	56.73 a
DMSH	4.2	206.4	13.6	0.45

<sup>2</sup>Medias con diferente letra en una columna son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey con una  $P \leq 0.05$ .

DMSH: Diferencia mínima significativa honesta.

La sequía redujo en 18 % el contenido foliar de miricetina pero el de luteolina fue 1.7 veces mayor que el testigo, mientras que quercetina y kaempferol no se modificaron en grado significativo (Cuadro 2). Como el estudio se realizó en campo, donde el ambiente es variable, se sugiere verificar estos resultados en condiciones controladas. El tipo y cantidad de flavonoides varían con las condiciones ambientales, y con las condiciones endógenas del árbol (Chaves *et al.*, 1993; 1997). Una posible explicación del aumento en luteolina, es que este compuesto evita daños en el ADN, causados por radicales libres, inducidos por sequía, como proponen Semejina *et*

al. (1995), al considerar que la luteolina presenta mayor efecto antimutagénico que la quercetina.

**CUADRO 2. Efecto de la sequía en el contenido (mg·kg<sup>-1</sup>) de flavonoides en hojas de guayabo.**

Tratamiento	Miricetina	Quercetina	Luteolina	Kaempferol
Testigo	62.08 a <sup>z</sup>	969.4 a	32.87 b	46.59 a
Sequía	51.07 b	874.2 a	88.86 a	36.52 a
DMS	0.5	124.3	4.7	14.16

<sup>z</sup>Medias con diferente letra en una columna son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey con una  $P \leq 0.05$ .

DMSH: diferencia mínima significativa honesta.

La poda de los árboles de guayabo provocó incrementos en los contenidos de miricetina y quercetina, de 18 y 25 %, respectivamente; los otros compuestos no presentaron diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 3). Dado que la poda mejora la entrada de luz al interior del dosel, este factor y el daño ocasionado por la poda pudieron haber favorecido la síntesis de algunos flavonoides (Chaves y Escudero, 1999).

**CUADRO 3. Efecto de la poda en el contenido (mg·kg<sup>-1</sup>) de flavonoides en hojas de guayaba.**

Tratamiento	Miricetina	Quercetina	Luteolina	Kaempferol
Antes de poda	54.473 b <sup>z</sup>	849.71 b	60.45 a	41.664 a
Después de poda	64.157 a	1,041.5 a	32.83 b	45.675 a
DMS	1.3	64.2	2.2	10.12

<sup>z</sup>Medias con diferente letra en una columna son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey con una  $P \leq 0.05$ .

DMSH: diferencia mínima significativa honesta.

Se infiere que la defoliación fue la práctica de manejo que más aumentó el contenido de flavonoles en la hoja de guayaba. Por tanto, parece una práctica recomendable para producir hojas con mayor concentración de flavonoides, para las diferentes aplicaciones medicinales (Lozoya *et al.*, 1994; Ross, 1998; Jaiarj *et al.*, 1999; Lans *et al.*, 2000).

## CONCLUSIONES

Los árboles de guayabo alteran su composición de flavonoides con el estrés de defoliación, sequía o poda que se realizan anualmente en el cultivo con la finalidad de incrementar producción y calidad. Los desechos de poda y defoliación pueden ser útiles para el uso sustentable de la producción como un producto.

## LITERATURA CITADA

CROZIER, A.; JENSEN, E.; LEAN, E.; MORAG, J.; MCDONALD, S. 1997. Quantitative analysis of flavonoids by reversed-phase high-

performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography* 761: 315-321

CHAVES, N.; ESCUDERO, J.; GUTIÉRREZ-MERINO, C. 1993. Seasonal variation of exudates of *Cistus ladanifer*. *Journal Chemical Ecology* 19: 2577-2591.

CHAVES, N.; ESCUDERO, J. 1999. Variation of flavonoid synthesis induced by ecological factors. pp. 267-285. *In: Principles and Practices in Plant Ecology Allelochemical Interactions*. INDERJIT, K.; DAKSHINI, K. M. M.; CHESTER, F. L. (eds). CRC Press. Boca Ratón. Florida, USA.

CHAVES, N.; ESCUDERO, J.; GUTIÉRREZ-MERINO, C. 1997. Role ecological variables in the seasonal variation of flavonoid content of *Cistus ladanifer* exudate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 579-603.

HARBORNE, J. B. 1984. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Second edition. Chapman and Hall. London, UK. 278 p.

JAIARJ, P.; KHOOHASWAN, P.; WONGKRAJANG, Y.; PEUNGVICHA, P.; SURIYAWONG, P.; SARAYA, M. L.; RUANGSOMBOON, O. 1999. Anticough and antimicrobial activities of *Psidium guajava* Linn. leaf extract. *Journal Ethnopharmacology* 67: 203-212.

JORDAN, B. R. 2002. Molecular of plant cells to UV-B stress. *Funct. Plant Biol.* 29: 909-916.

KEINANEN, M.; JULKUNEN-TIITTO, R.; MUTIKAINEN, P.; WALLS, M.; OVASKA, J.; VAPAAVUORI, E. 1999. Trade offs in secondary metabolism: effects of fertilization, defoliation, and genotype on birch leaf phenolics. *Ecology* 80: 1970-1986.

LAITENEN, M. L.; JULKUNEN-TIITTO, R.; ROUSI, M. 2000. Variation in phenolic compounds within a birch (*Betula pendula*) population. *Journal Chemical Ecology* 26: 1609-1622.

LANCASTER, J. E.; REAY, P. F.; NORRIS, J.; BUTLER, R. 2000. Induction of flavonoids and phenolic acids in apple by UV-B and temperature. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 75: 142-148.

LANS, CH.; HARPER, T.; GEORGES, K.; BRIDGEWATER, E. 2000. Medicinal plants used for dogs in Trinidad and Tobago. *Preventive Veterinary Medicine* 45: 201-220.

LEMBERKOVICS, E.; PETRI, G.; NGUYEN, H.; MÁTHÉ, I. 1996. Relationships between essential oil and flavonoid biosynthesis in sweet basil. *Acta Horticulturae* 426: 641-655

LOZOYA, X.; MECKES, M.; ABOU-ZAID, M.; TORTORIELLO, J.; NOZZOLILLO, C.; ARNASON, J. T. 1994. Quercetin glycosides in *Psidium guajava* L. Leaves and determination of a spasmolytic principle. *Archive of Medical Research* 25: 11-15.

MIEAN, K. H.; MOHAMED, S. 2001. Flavonoid myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin content of edible tropical plants. *Journal Agricultural Food Chemistry* 49: 1306-3112.

RAMANJULU, S.; BARTELS, D. 2002. Drought and desiccation-induced modulation of gene expression in plant. *Plant Cell and Environment* 25: 141-151.

RAY, P. F.; LANCASTER, J. E. 2001. Accumulation of anthocyanins and quercetin glycosides in Gala and Royal Gala apple fruit with UV-B-Visible irradiation: modifying effects of fruit maturity, fruit side and temperature. *Scientia Horticulturae* 90: 57-68.

ROSS, H. I. 1998. *Medicinal Plants of the World*. Press Inc., Totowa, New Jersey, USA.

SEMEJIMA, K.; KANAZAWA, K.; ASHIDA, H.; DANNO, G. 1995. Luteolin: a strong antimutagen against dietary carcinogen, Trp-P-2,

- in peppermint, sage and thyme. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 410-414
- SESHADRI, R. T.; VASISHTA, K. 1965. Polyphenols of the leaves of *Psidium guajava*: quercetin, guaijaverin, leucocyanidin and amritoside. *Phytochemistry* 4: 989-992.
- SHIGEURA, G. T.; BULLOCH, R. M.; SILVA, J. A. 1975. Defoliation and fruit set in guava. *Hortscience* 6: 590.
- SINGH, G.; SINGH, A. K.; SINGH, G. 1994. Urea- induced defoliation and subsequent yield in guava. *Fertilizer News* 39: 39-41.
- STEWART, A. J.; CHAPMAN, W.; JENKIS, G. I.; GRAHAN, I.; MARTIN, I.; CROZIER, A. 2001. The effect of nitrogen and phosphorus deficiency on flavonol accumulation in plant tissues. *Plant Cell and Environment* 24: 1189-1197.
- VALETTE, C.; ANDARY, C.; GERGER, J. P.; SARAH, J. L.; NICOLE, M. 1998. Histochemical and cytochemical investigations of phenols an roots of banana infected by the burrowing nematode (*Radopholus similis*). *Nematology* 88: 1441-1448
- WATTERMAN, P. G.; MOLE, S. 1989. Extrinsic factors influencing production of secondary metabolites in plant, pp. 107-134. *In: Set Plant Interactions*. BERNAYS, E. A. (eds). Volume I. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA.