

“Estudio analítico del efecto del estrés abiótico en plantas en la síntesis de metabolitos secundarios”

Bueno-Lopez Ana Daniela; Chávez-Ascencio Mauricio; Guerrero-Jaramillo Israel; Guido-Mendoza Angelica Elizabeth; Longoria-Vázquez Eduardo Fabian; Pedroza-Vázquez Magali Giselle; Uribe-Rojas Valeria Nicole; Wrobel Kazimierz y Yáñez-Barrientos Eunice.

INTRODUCCION

Los productos agrícolas son la principal fuente de nutrientes necesarios tanto para animales como para humanos. La falta de conocimiento sobre las rutas metabólicas y sus componentes genéticos contribuyó a retrasar el progreso en el desarrollo de estrategias para mejorar la calidad nutricional de los cultivos. Una de las estrategias agronómicas que se ha implementado para mejorar el contenido nutricional, es mediante modificaciones de factores abióticos en las condiciones de cultivo; los cuales favorecen la obtención de alimentos que suministren de manera consistente y adecuada tanto los nutrientes requeridos, como metabolitos con actividad biológica benéfica¹.

Cambios en el medio de crecimiento:

- > Luz
- > Agua
- > Temperatura
- > Salinidad

- > Fenoles
- > Ácidos benzóicos
- > Flavonoides
- > Fenilpropanoides

En los procesos de defensa y supervivencia de las plantas participan un grupo de compuestos de baja masa molecular denominados “metabolitos secundarios”; se encuentran los compuestos fenólicos. Se han reportado efectos biológicos benéficos para la salud del ser humano como la actividad antioxidante, quimiopreventiva, antiinflamatoria y antimicrobiana².

Objetivo

Generar conocimiento aplicable en el campo de la nutraceutica, agronomía y química analítica para la producción de alimentos funcionales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

NaCl (mg L ⁻¹)	Flavonoides (mg g ⁻¹)	Aox (eq. Ácido gálico g ⁻¹)	Fenoles (eq. Ácido gálico g ⁻¹)
Rábano			
0	5.51 ± 0.33	3.21 ± 0.08	6.29 ± 0.19
0.5	6.54 ± 0.29	3.15 ± 0.03	6.17 ± 0.33
1	6.65 ± 0.21	3.40 ± 0.09	6.63 ± 0.39
5	<u>6.73 ± 0.24</u>	3.64 ± 0.09	<u>7.77 ± 0.29</u>
10	6.13 ± 0.22	<u>3.91 ± 0.15</u>	6.75 ± 0.78
30	6.05 ± 0.19	3.44 ± 0.11	7.29 ± 0.26
50	5.85 ± 0.12	3.23 ± 0.19	7.01 ± 0.52
100	5.72 ± 0.23	3.19 ± 0.01	7.11 ± 0.50
Trigo			
0	6.95 ± 0.37	2.50 ± 0.10	4.29 ± 0.26
0.5	6.24 ± 0.02	2.51 ± 0.08	4.15 ± 0.40
1	5.80 ± 0.26	2.43 ± 0.07	3.91 ± 0.27
5	6.27 ± 0.19	2.81 ± 0.12	4.21 ± 0.15
10	6.00 ± 0.27	2.79 ± 0.17	4.33 ± 0.30
30	<u>6.55 ± 0.41</u>	2.89 ± 0.22	<u>4.92 ± 0.13</u>
50	6.07 ± 0.52	2.96 ± 0.06	4.55 ± 0.07
100	6.15 ± 0.03	<u>3.10 ± 0.12</u>	4.52 ± 0.03
Fenogreco			
0	3.42 ± 0.13	0.94 ± 0.11	4.05 ± 0.06
0.5	<u>3.80 ± 0.12</u>	0.91 ± 0.06	3.77 ± 0.22
1	3.27 ± 0.16	0.81 ± 0.17	2.95 ± 0.50
5	3.19 ± 0.04	0.95 ± 0.06	3.79 ± 0.12
10	3.09 ± 0.23	1.02 ± 0.09	3.92 ± 0.02
30	3.14 ± 0.15	0.95 ± 0.15	<u>3.96 ± 0.08</u>
50	3.35 ± 0.07	1.01 ± 0.09	3.81 ± 0.23
100	3.41 ± 0.18	<u>1.02 ± 0.03</u>	3.83 ± 0.04

Tabla 1. Resultados de la determinación de la capacidad antioxidante, contenido de fenoles y flavonoides.

Para los **flavonoides libres** el mayor contenido se registró para trigo > rábano > fenogreco. En la **capacidad antioxidante** y el contenido de **fenoles** se registró, el rábano > trigo > fenogreco.

PARTE EXPERIMENTAL

Esquema del procedimiento analítico que se llevó a cabo para la evaluación del estrés salino suave sobre metabolismo antioxidante

- Germinados de trigo, rábano y fenogreco expuestas a NaCl por 15 días en solución de Hoagland
- Niveles de concentración usadas 0, 0.5, 1, 5, 10, 30, 50 y 100 mg NaCl L⁻¹.
- Se recolectaron y liofilizaron para su preservación y posterior análisis

Extracción de metabolitos

- 50 mg de biomasa liofilizada.
- 1000 µL de MeOH al 80% (16h).
- 40min de sonicación.
- 15min en centrifuga a 10000g.

Determinación de

Flavonoides libres

- 100µl del extracto metanólico
- Adición de 250uL de NaNO₂.
- Adición 250uL de AlCl₃, incubación por 10 min.
- Adición de 750uL de NaOH, incubación por 10 min.
- Volumen final de muestra de 3000 µl con metanol al 80%
- Determinación a 510 nm

Fenoles libres

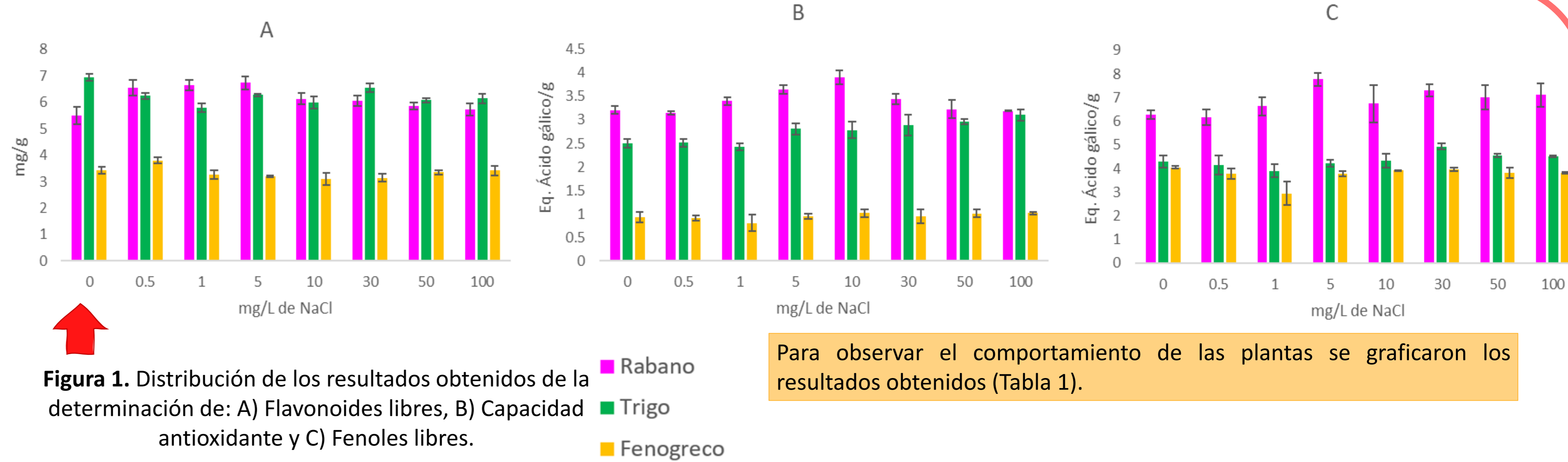
- 100 µl del extracto metanólico
- Adición de 250 µl Folin-Ciocalteu 1N agitación.
- Adición de 250 µl Na₂CO₃ 10% y agitación.
- Incubación por 2 horas en oscuridad.
- Volumen final de muestra de 3000µl con agua desionizada.
- Determinación a 760 nm.

Capacidad antioxidante

- Preparar solución ABTS+, incubación por 16h.
- Ajuste de pH a 7.0 de la solución de ABTS+ con buffer de fosfatos
- Dilución se solución de ABTS+ hasta obtener valor de absorbancia de 0.7 a 734 nm.
- 100 µl del extracto metanólico para fenogreco y 100µl del extracto diluido previamente 10 veces para trigo y rábano.
- Adición de 22 µl de la solución ABTS+ de absorbancia 0.7
- Volumen final de muestra de 2000µl con buffer de fosfatos

Análisis estadístico

Se seleccionó el método de análisis de componentes principales (PCA – principal component analysis) y se utilizó el paquete de software The Unscrambler 7.0 (CAMO).



Para observar el comportamiento de las plantas se graficaron los resultados obtenidos (Tabla 1).

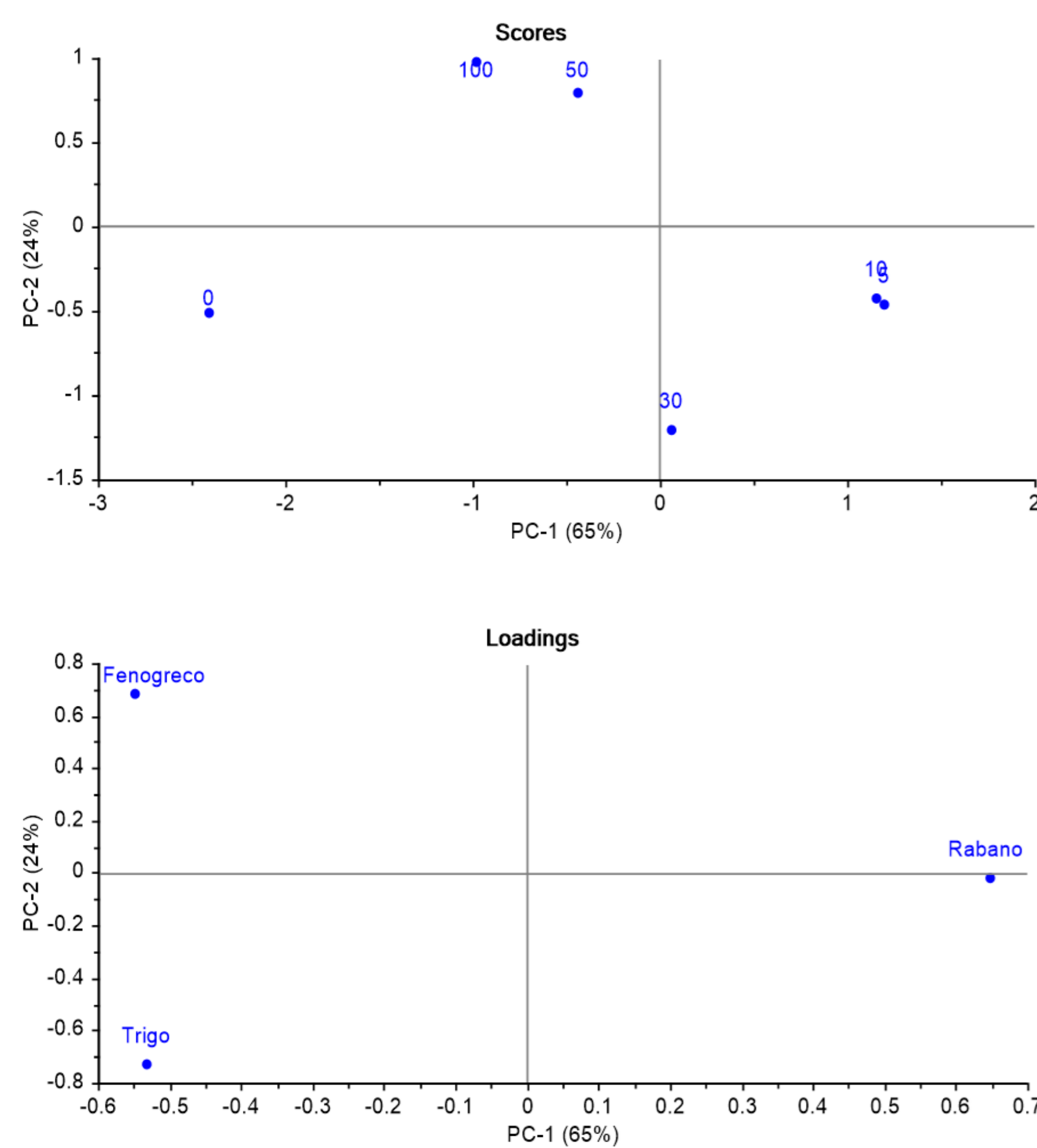


Figura 2. Modelo PCA obtenido de los resultados obtenidos de la determinación del contenido de flavonoides libres.

Se observan 3 asociaciones: 1) entre el fenogreco y las condiciones de 50 y 100 mg NaCl L⁻¹, 2) entre rábano con las condiciones de 5.0 y 10 mg NaCl L⁻¹ y 3) entre el trigo y el tratamiento control. Estas sugieren que en las concentraciones señaladas el contenido de flavonoides libres se ve favorecido.

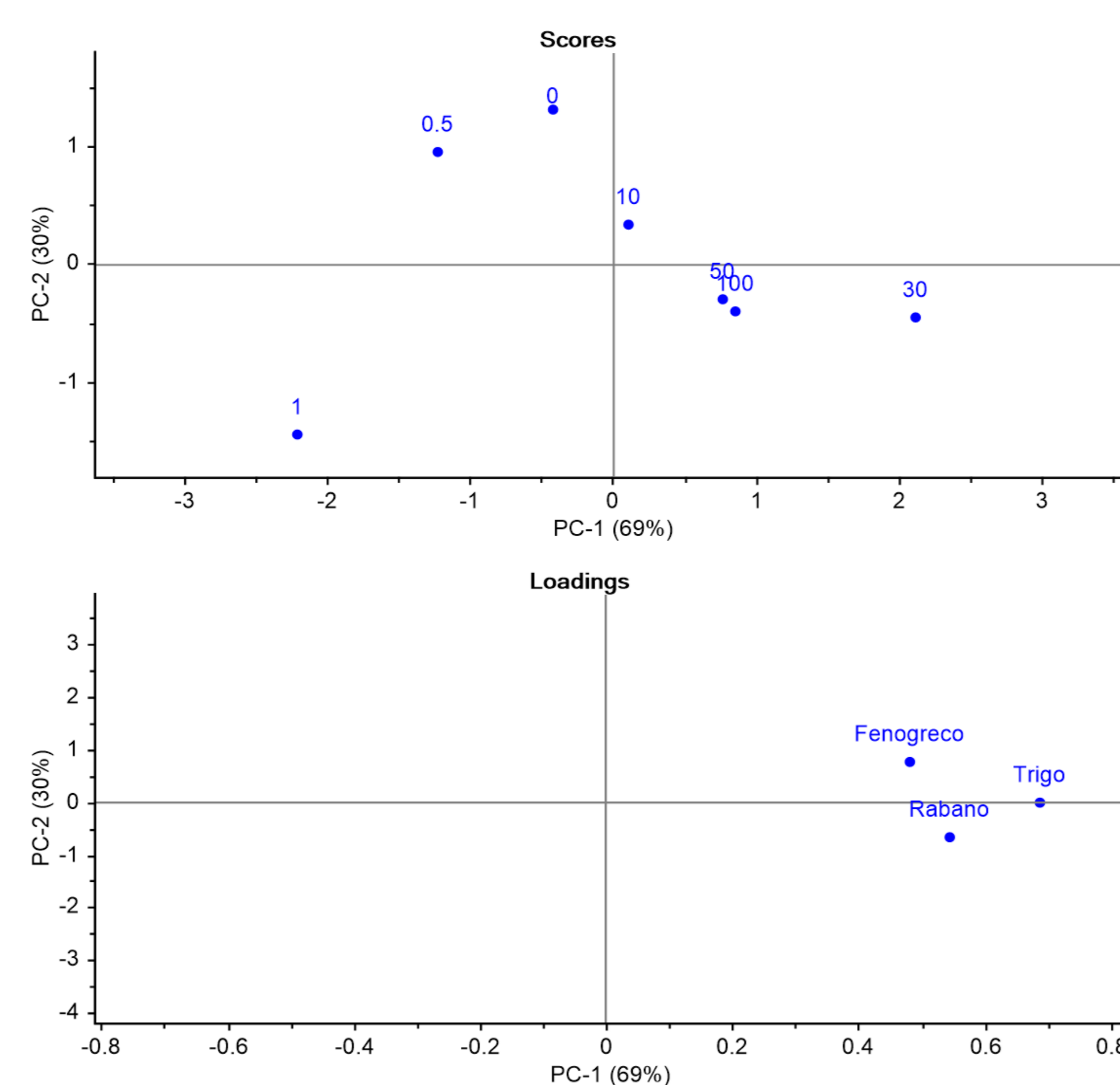


Figura 3. Modelo PCA obtenido de los resultados obtenidos de la determinación de los compuestos fenólicos.

Se observa que en la región de los valores positivos del primer componente (PC-1) se acomodan las concentraciones más altas de NaCl y se asocian con las 3 plantas, y en la sección de los valores negativos del PC1 se distribuyen el control y la concentración más baja del estresante (0.5 mg NaCl L⁻¹). Esto sugeriría que el contenido de flavonoides libres se ve favorecido para las tres plantas en el rango de 10 – 100 mg NaCl L⁻¹.

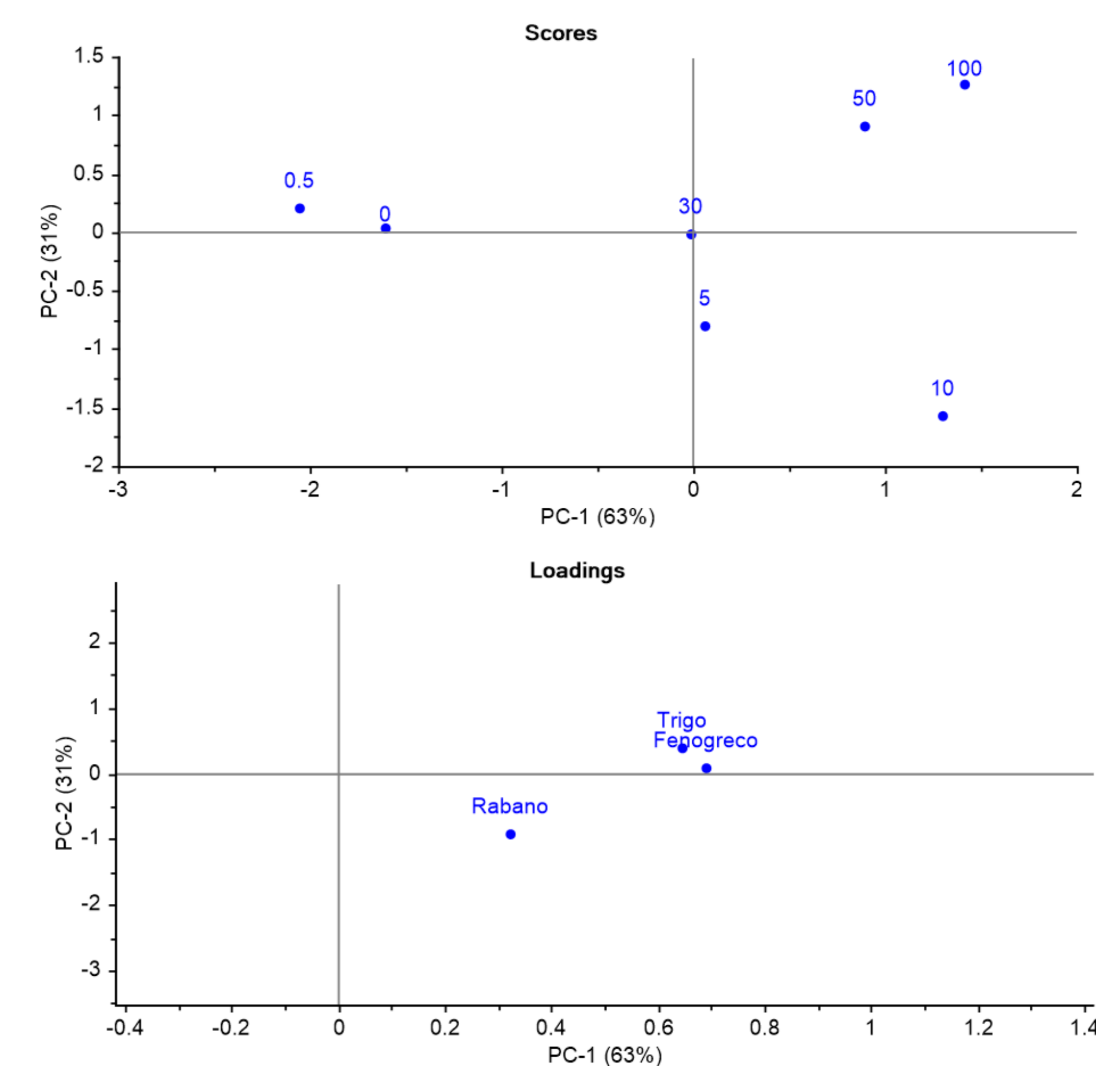


Figura 4. Modelo PCA obtenido de los resultados obtenidos de la determinación de la capacidad antioxidante.

Se observan 2 asociaciones: 1) la correspondiente a trigo-fenogreco con las condiciones de 50 y 100 mg NaCl L⁻¹ y 2) la de rábano con las condiciones de 5 y 10 mg NaCl L⁻¹. La primera asociación sugiere que pudieran tener un comportamiento similar en la capacidad antioxidante; mientras que para la segunda asociación sugiere que el rábano a concentraciones 10 veces menores (5 y 10mg NaCl L⁻¹) se registra la máxima actividad de antioxidante.

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se llevó a cabo el estudio analítico del efecto del estrés salino suave en la síntesis de metabolitos secundarios (fenoles y flavonoides libres) y la capacidad antioxidante. Se seleccionaron 3 plantas comestibles (rábano, trigo y fenogreco) las cuales fueron germinadas a diferentes concentraciones de NaCl (0 – 100mg NaCl L⁻¹). En estas condiciones de salinidad suave para ninguna de las plantas y en ninguna condición de exposición se presentaron efectos fitotóxicos visibles como clorosis. Sólo en fenogreco se registró una disminución en la producción de biomasa a la concentración de 100 mg L⁻¹, mientras que para rábano y trigo la cantidad de biomasa generada fue similar en todos los tratamientos comparado con los controles. La respuesta de cada planta a las mismas condiciones de estrés fue diferente en los tres factores evaluados, siendo la planta de rábano la que presentó los mejores resultados de respuesta al estrés impuesto, ya que se vio favorecido la síntesis de flavonoides y fenoles libres en prácticamente todo el rango de exposición comparado con el control.

Bibliografía

- Akula R, Ravishankar GA. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*. 2011;6(11):1720-1731. doi:10.4161/psb.6.11.17613
- Akula R, Ravishankar GA. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*. 2011;6(11):1720-1731. doi:10.4161/psb.6.11.17613