



181
201

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ANÁLISIS DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN HOJAS Y
ESTIGMAS DE MAÍZ COMO RESPUESTA FRENTE AL GUSANO
COGOLLERO, Spodoptera frugiperda Y AL GUSANO
BARRENADOR, Diatraea grandiosella

TESIS

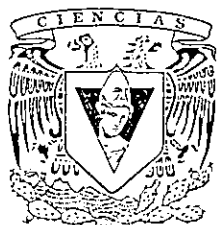
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

PRESENTA:

BEATRIZ ZÚÑIGA RUIZ

DRA. PATRICIA GUEVARA FEFER
DIRECTOR DE TESIS



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1998



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

265611



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central

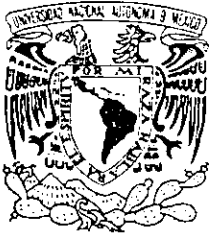


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:
"ANÁLISIS DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN HOJAS Y ESTIGMAS DE MAÍZ COMO RESPUESTA
FRENTE AL GUSANO COGOLLERO, Spodoptera frugiperda Y AL GUSANO BARRENADOR,
Diatraea grandiosella"

realizado por BEATRIZ ZUÑIGA RUIZ

con número de cuenta 8724996-5 , pasante de la carrera de BIOLOGIA

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis Propietario DRA. PATRICIA GUEVARA FEFER

Propietario DRA. M. CRISTINA PEREZ-AMADOR BARRON

Propietario DRA. ANA LUISA ANAYA LANG

Suplente BIOL. JOSEFINA HERRERA

Suplente M. en C. R. MARGARITA PONCE SALAZAR

U.N.A.M.
Consejo Departamental de Biología
DRA. EDNA MARIA SUAREZ

Edna M. Suarez



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

A la memoria de mi Padre:

Benjamín Zúñiga Aceves, porque junto con mamá constituyen el pilar fundamental de mi vida, por tu ejemplo de lucha, de responsabilidad. Por haberme dado una educación que es la herencia más valiosa que me pudiste haber legado. Mil Gracias Papá. Te quiero y extraño mucho.

A tí mamá:

Ma. Elena Ruiz, por todo tu amor, por ser partícipe de todos los momentos más importantes de mi vida, de mis tristezas y alegrías, por tu ejemplo de tenacidad y fortaleza, por enseñarme a caminar sola en la vida. Mil gracias mamá, Te quiero mucho.

Esta meta que he alcanzado hoy, es una pequeña muestra de gratitud; porque sé que nunca podré pagar todo lo que han hecho por mí.

A tí Eleazar:

Que eres parte esencial de mi vida; por todo tu amor, apoyo y comprensión en todo este tiempo; por ser mi compañero y mi mejor amigo. Gracias Bebé.

Por este vuelo que estamos emprendiendo juntos, estoy segura que es el comienzo de un largo camino que recorrer.

TE AMO

A mi hermano Benjamín, que a pesar de todo, existen recuerdos felices y un cariño que nos une.

A mi pequeña alegría Ivanova y Ale, mis sobrinas que empiezan su larga carrera por la vida, les deseo lo mejor siempre.

A mi abuelita, tía Cho y Angélica, por ser cada una de ustedes una segunda madre para mí, por su gran cariño e incondicional apoyo.

A mis tíos Luciano, Arnulfo y Andrés, por su gran ayuda en todo momento y a todos mis primos por la alegría de crecer juntos.

A la familia González Velázquez y Reyes, con gran cariño y respeto.

A mis amigas de siempre Guadalupe, Angélica, Gabrielle y Ericka por tanto tiempo compartido juntas y por su invaluable amistad.

A Tamara por saber escuchar, por tu gran ayuda y por todo el tiempo que me dedicaste para la edición de esta tesis. Gracias por ser nuestra amiga.

A mi segunda familia, mis amigos de Lavanda, por todos los gratos momentos compartidos en todo este tiempo. En especial a la prima Lorena, Felipe y Rafael que sin su gran ayuda no habría llegado a su fin este trabajo. Mil gracias.

A mis amigos del Instituto de Matemáticas: Lidia, Héctor, Leo, y Sr. León; que contribuyeron en la edición de esta tesis y por siempre estar al pendiente de mí. Gracias.

AGRADECIMIENTOS

Especialmente a la Dra. Patricia Guevara Fefer, que gracias a sus consejos, motivación y asesoría se logró llevar acabo este trabajo. Muchas gracias Paty.

A la Biól. Josefina Herrera, por su gran ayuda y disposición en todo momento para la realización de esta tesis.

A las siguientes personas que participaron como sínodo, por el tiempo dedicado a este trabajo y sus valiosos comentarios para mejorarlo.

Dra. Ma. Cristina Pérez-Amador

Dra. Ana Luisa Anaya Lang

M. en C. R. Margarita Ponce Salazar

Al Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del CINVESTAV-IPN, en especial a la Mtra. Elvira Ríos y Francisco Rangel, ya que sin su gran aportación en la metodologica de este trabajo, no habría llegado a su fin.

Al CIMMyT por el apoyo en la siembra del material.

Al laboratorio 201 del Instituto de Química en especial a la Mtra. Lilia y al de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias, por haber permitido utilizar su equipo de trabajo para la realización de este trabajo.

Al CONACYT por el apoyo al proyecto 5-0149 PN.

A los compañeros del laboratorio que estuvieron en su momento:

Chuy, Tony, Mati, Eva, Martha y Carlitos por haber hecho la estancia muy agradable.

CONTENIDO

CONTENIDO	I
LISTA DE GRÁFICAS	II
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	3
A) IMPORTANCIA DEL MAÍZ.....	3
B) CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS.....	3
C) CICLO DE VIDA.....	3
D) FISIOLOGÍA DEL MAÍZ EN CONDICIONES DE ESTRÉS.....	5
E) PRINCIPALES PLAGAS DE INSECTOS QUE ATACAN EL MAÍZ.....	6
E.1) <i>Spodoptera frugiperda</i>	6
E.2) <i>Diatraea grandiosella</i>	9
F) RESPUESTAS DE LAS PLANTAS FRENTE AL ATAQUE DE INSECTOS.....	10
H) ÁCIDOS FENÓLICOS (ÁCIDOS HIDROXICINÁMICOS).....	12
JUSTIFICACIÓN	17
OBJETIVO GENERAL	18
OBJETIVOS PARTICULARES	18
MATERIALES Y MÉTODOS	19
A) SIEMBRA E INFESTACION DEL MATERIAL.....	19
B) COLECTA DEL MATERIAL.....	19
C) SECADO Y MOLIENDA DEL MATERIAL.....	20
D) EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS FENÓLICOS.....	20
E) ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC).....	21
F) DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE MAYSINA Y SUS ANÁLOGOS.....	22
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
CONCLUSIONES	40
BIBLIOGRAFÍA	41

LISTA DE GRÁFICAS

- Gráfica 1 Concentración de Ácidos Fenólicos sin hidrolizar, en la línea de maíz CML 67 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *D. grandiosella*. p. 27
- Gráfica 2 Concentración de Ácidos Fenólicos sin hidrolizar, en la línea de maíz CML 131 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *D. grandiosella*..... p. 27
- Gráfica 3 Concentración de Ácido Caféico hidrolizado y sin hidrolizar, en la línea de maíz CML 67 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *D. grandiosella*..... p. 28
- Gráfica 4 Concentración de Ácido Caféico hidrolizado y sin hidrolizar, en la línea de maíz CML 131 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *D. grandiosella*..... p. 28

- Gráfica 5 Concentración de Ácido Cumárico hidrolizado y sin hidrolizar, en la línea de maíz CML 67 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *D. grandiosella* p. 29
- Gráfica 6 Concentración de Ácido Cumárico hidrolizado y sin hidrolizar, en la línea de maíz CML 131 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *D. grandiosella* p. 30
- Gráfica 7 Concentración de Ácido Ferúlico hidrolizado y sin hidrolizar , en la línea de maíz CML 67 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *D. grandiosella* p. 31
- Gráfica 8 Concentración de Ácido Ferúlico hidrolizado y sin hidrolizar , en la línea de maíz CML 131 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *D. grandiosella* p. 31
- Gráfica 9 Concentración de Ácidos Fenólicos hidrolizados en la línea de maíz CML 67, en diferentes estados de desarrollo infestadas con *D. grandiosella*..... p. 32

- Gráfica 10 Concentración de Ácidos Fenólicos hidrolizados en la línea de maíz CML 131, en diferentes estados de desarrollo infestadas con *D. grandiosella* p. 32
- Gráfica 11 Concentración de Ácidos Fenólicos sin hidrolizar, en la línea de maíz CML 67, en diferentes estados de desarrollo infestadas con *S. frugiperda*..... p. 35
- Gráfica 12 Concentración de Ácidos Fenólicos sin hidrolizar, en la línea de maíz CML 131 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *S. frugiperda*..... p. 36
- Gráfica 13 Concentración de Ácido Cumárico hidrolizado y sin hidrolizar, en la línea de maíz CML 67 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *S. frugiperda* p. 36
- Gráfica 14 Concentración de Ácido Cumárico hidrolizado y sin hidrolizar, en la línea de maíz CML 131 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *S. frugiperda* p. 37

- Gráfica 15 Concentración de Ácido Ferúlico hidrolizado y sin hidrolizar, en la línea de maíz CML 67 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *S. frugiperda* p. 38
- Gráfica 16 Concentración de Ácido Ferúlico hidrolizado y sin hidrolizar, en la línea de maíz CML 131 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *S. frugiperda* p. 38
- Gráfica 17 Concentración de Maysina y compuestos análogos en estigmas de la línea de maíz CML 67, infestadas con las dos plagas..... p. 42
- Gráfica 18 Concentración de Maysina y compuestos análogos en estigmas de la línea de maíz CML 131, infestadas con las dos plagas p. 42

INTRODUCCIÓN

El maíz se encuentra dentro de los tres cereales más importantes del mundo, junto con el arroz y el trigo, y una de sus principales características es su gran capacidad de adaptación a diferentes tipos de ambientes. De ahí la importancia de estudio de este cereal. (Lafitte, 1994).

Sin embargo durante su crecimiento las plantas se enfrentan a diferentes tipos de estrés; bióticos y abióticos, dentro de los primeros se encuentran las plagas, y las pérdidas debidas a éstas durante las diferentes etapas de crecimiento son considerablemente altas. (Storey, 1988).

Las respuestas de las plantas frente a los diferentes tipos de estrés varían, así como el grado de resistencia que pueden desarrollar (Loyola-Vargas, 1990). Esta resistencia depende de algunas propiedades, como es la dureza y textura del tejido de la planta, calidad nutricional, etc.

Otro mecanismo de respuesta que presentan las plantas ante el estrés, es la producción de compuestos del metabolismo secundario como defensa al ataque de un depredador. Dentro de los diferentes grupos de compuestos involucrados se encuentran los flavonoides, alcaloides, terpenos, entre otros; su síntesis está determinada genéticamente, pero existen marcadas influencias del ambiente en la cantidad. Estos compuestos se forman en su mayor parte en los tejidos jóvenes en activo crecimiento, por lo que los factores que afectan el

crecimiento de estos tejidos, también afectan su síntesis. (Edwards, y col. 1983).

Un grupo de compuestos involucrados en la resistencia que se reportan en trabajos previos, es el grupo de los compuestos fenólicos, considerados como precursores de los materiales de pared celular , como la lignina (Serratos, 1993).

En éste trabajo se determinó la concentración de diferentes ácidos fenólicos a fin de determinar su papel en diferentes líneas de maíz con respuesta diferencial frente al ataque por plagas de insectos.

El material a estudiar comprende hojas de dos líneas de maíz consideradas una resistente y la otra susceptible, colectadas en diferentes estadios de desarrollo de la planta, e infestadas previamente con larvas neonatas de *Spodoptera frugiperda* o *Diatraea grandiosella*.

ANTECEDENTES

A) IMPORTANCIA DEL MAÍZ

El maíz se cultiva en una amplia gama de climas desde el ecuador hasta cerca de 50° de latitud norte y 42° latitud sur y alturas hasta de 3800 m (Ortega, 1987); en particular, se siembra maíz desde Canadá, E. U. A.; México, hasta el Sur de Argentina.

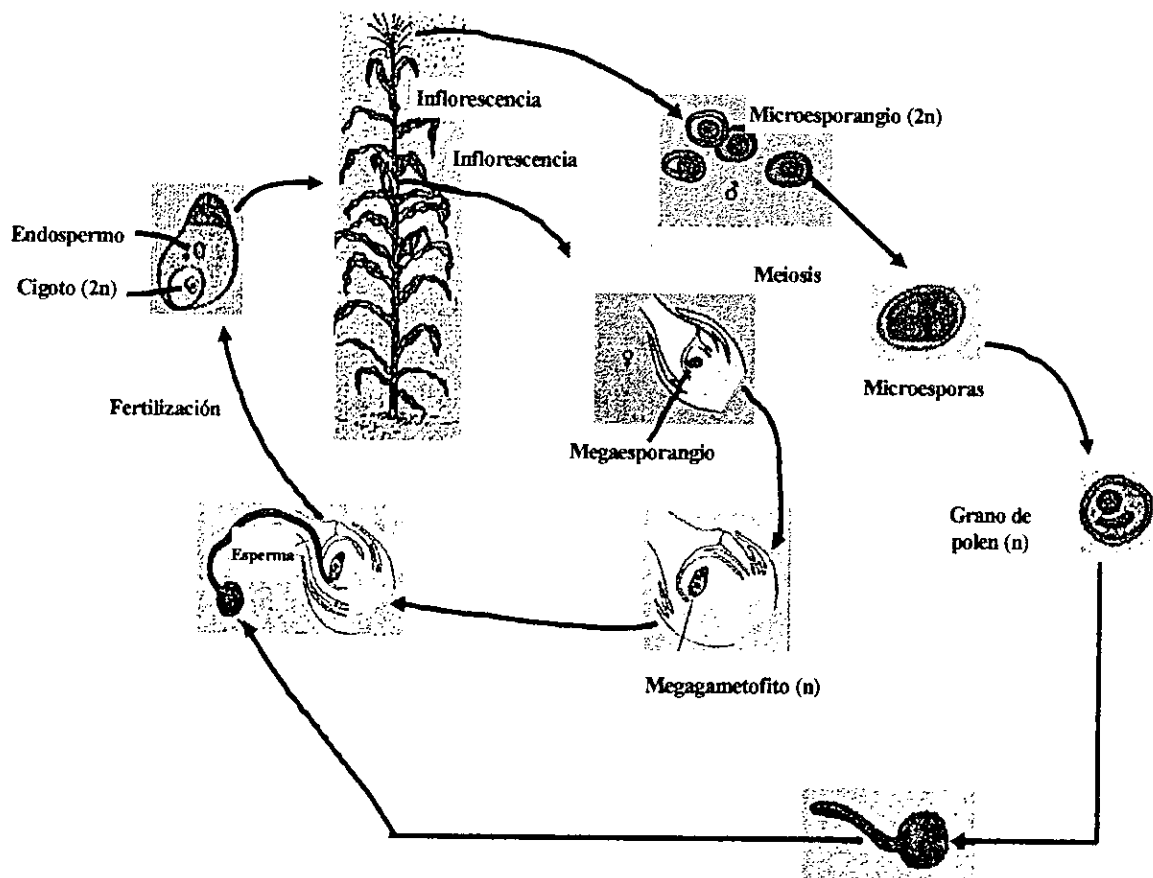
B) CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS

Sus flores masculinas forman la inflorescencia terminal y las flores femeninas están agrupadas en gruesos espádices laterales; las mazorcas nacen de la parte inferior del tallo están constituidas por una estructura central, el zuro, sobre el cuál los granos están dispuestos en hileras, las mazorcas están cubiertas por hojas modificadas que forman la perfolia, entre éstas y la parte superior de la mazorca salen delgados y largos estilos, éstos son los que reciben el polen de las flores masculinas, por lo general en cada planta solo maduran una o dos mazorcas. (Masfield, 1989).

C) CICLO DE VIDA

La fecundación se lleva a cabo, cuando las anteras salen de las escamas protectoras y, al ser agitadas por el viento sueltan el polen, el cual viaja hasta donde los estigmas sobresalen en la parte superior de la mazorca, lo que permite a los granos de polen caer sobre ellos.

Después de la fecundación, cada ovario se transforma en un fruto cariósipide que lleva en su interior una sola semilla, la cuál contiene bastantes sustancias de reserva en el endospermo y lleva en su parte basal al embrión; éste se adosa al endospermo por una porción ensanchada llamada escutelo, que parece representar el único cotiledón y se encarga de proporcionar los materiales de reserva durante la germinación. (Ruiz, 1986).



Ciclo de vida del maíz (Modificado de Farabee, 1997)

D) FISIOLÓGÍA DEL MAÍZ EN CONDICIONES DE ESTRÉS

Son diversos los factores ambientales que influyen en las plantas durante las distintas etapas del desarrollo, entre ellos se encuentran los diferentes tipos de estrés por factores bióticos y abióticos. (Loyola-Vargas, 1990).

Entre los factores abióticos que afectan la producción del maíz se encuentran:

- a) **Hídrico.** Es el que más comúnmente afecta a este cultivo. La planta de maíz es muy sensible al estrés hídrico y durante la formación de granos el tamaño de éstos disminuye (Lafitte, 1994), y además la densidad de población puede reducir.

- b) **Efectos de Sol y Temperatura.** El maíz tolera una amplia gama de temperaturas, pero las muy altas de 45°C o menores a 5°C pueden tener un efecto negativo en el rendimiento. (Lafitte, 1994).

- c) **Suelos.** El maíz se ve afectado por suelos muy ácidos o muy alcalinos, los que ocasionan un aumento o una disminución en la disponibilidad de ciertos elementos, produciendo toxicidad o carencia de los mismos. (Lafitte, 1994).

- d) **Nutrientes Minerales.** La planta de maíz necesita ciertos elementos minerales para desarrollarse bien, y solo tres son necesarios en cantidades relativamente grandes; el nitrógeno, fósforo y potasio, los que con mayor frecuencia limitan la producción del maíz. (Lafitte, 1994).

- e) **Daños Químicos.** El cultivo de maíz puede ser dañado por el uso inadecuado de productos agroquímicos como herbicidas, fertilizantes o insecticidas, que si se aplican en

una dosis demasiado alta en una etapa de crecimiento incorrecta, provocan malformación de plantas jóvenes, amarillamiento, quemaduras y muerte de las hojas o semillas. (Lafitte, 1994).

E) PRINCIPALES PLAGAS DE INSECTOS QUE ATACAN EL MAÍZ

En la mayoría de los ambientes donde se cultiva maíz, existen diversos factores que limitan su producción; uno de los factores bióticos de mayor influencia en las pérdidas de este cultivo está representado por las plagas de insectos ya que son capaces de infestar y atacar al maíz en cualquier etapa de su desarrollo, frecuentemente con graves consecuencias (Serratos, 1993).

Algunas de las plagas que amenazan el rendimiento de este cultivo, son del grupo de las llamadas palomillas (que incluye gusanos cortadores, eloteros, barrenadores y palomillas de los cereales) y son de los que más daños causan a nivel mundial. (Ortega, 1987).

E.1) *Spodoptera frugiperda*

Este insecto es una de las plagas más importantes que ataca la planta de maíz en el Continente Americano, ya que causa destrozos desde la etapa de plántula temprana hasta la premadurez.

Después de la eclosión las larvas comienzan a alimentarse raspando la epidermis de la hoja y más tarde pasan al verticilo foliar (cogollo) donde comen de manera voraz. Una infestación tardía en este afecta las espigas y todas las partes de la mazorca. Cuando el clima es caliente y seco, las larvas completamente desarrolladas que han caído al suelo,

comienzan a alimentarse en la base de la planta, cercenando el tallo tierno. (Ortega, 1987). Esta plaga se distribuye en todas las regiones agrícolas de México, principalmente en las zonas tropicales y subtropicales, y se extiende desde el norte de E. U. A., hasta América del Sur. (Robles, 1994); y es posible encontrar especies muy afines en África y Asia. (Ortega, 1987).

CICLO BIOLÓGICO

Generalmente un solo gusano adulto se encuentra en el verticilo foliar (Fig. 1), después de seis estadios larvales, el gusano de color café grisáceo completa su desarrollo (3 cm de largo), cae al suelo e inicia la etapa de pupa en una celdilla de tierra a pocos centímetros debajo de la superficie del suelo. Los adultos son palomillas de color gris oscuro que miden de 20 a 25 mm y tienen una pequeña mancha blanca en el extremo de las alas traseras; los huevecillos van de unos cuantos hasta varios cientos, son de color blanco, rosado o verde claro. Los depositan en montones cubiertos de pelusa y normalmente en el envés de las hojas. Las larvas emergen de los huevos todas juntas, su tasa de mortalidad es elevada debido a lluvia, depredadores y parásitos. (Ortega, 1987).



Fig. 1. Gusano cogollero (*S. frugiperda*)

E.2) *Diatraea grandiosella*

En estado adulto este gusano barrenador mide de 3 a 3.5 cm de expansión alar, es de color pajizo, las alas superiores son triangulares (Robles, 1994), tienen manchas negras conspicuas en cada segmento de su cuerpo. Las larvas hacen pequeños agujeros en las tiernas hojas del verticilo foliar (cogollo). También destruye otras partes de las plantas (por ejemplo la nervadura central). Una característica de los daños causados por los gusanos de invierno es que cortan parcialmente el tallo desde adentro, cerca del nivel del suelo, permaneciendo en la base del tallo debajo de la sección afectada hasta la primavera. Este género ataca a las gramíneas del Continente Americano. Se le encuentra desde la zona sureste de Estados Unidos hasta la faja maicera de Argentina y México. (Ortega, 1987).

CICLO BIOLÓGICO

En los verticilos foliares tiernos se observa la primera generación de pequeños gusanos blanquecinos de cabeza negra que se alimentan de las hojas enrolladas. Durante el crecimiento de la planta, en el tallo se pueden encontrar gusanos moteados blanquecinos o color crema, de cabeza color café, que horadan el tallo depositando su excremento. Las larvas de verano son moteadas (Fig. 2) y las de invierno blanquecinas. Las larvas mudan varias veces antes de formar pupas de color café, en cualquier sitio que se alimente (tallo, mazorca o en el pedúnculo de ésta), las que lo hacen del tallo, preparan la salida de la palomilla haciendo una "ventanilla" circular al final de la galería. Las palomillas de color paja, con dos líneas oscuras y oblicuas y un punto en el centro de las alas delanteras, suelen depositar masas de huevecillos blancos y ovalados, semejantes a escamas, en hileras traslapadas en el envés de las hojas. Al acercarse el momento de la eclosión, los huevos de color rojizo se tornan negros. (Ortega, 1987).

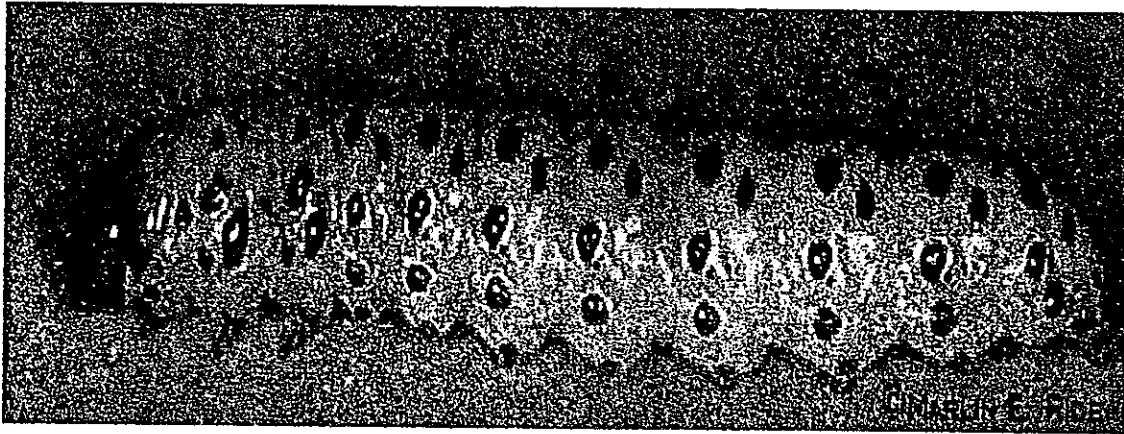


Fig. 2. Larva de verano del gusano barrenador (*D. grandiosella*)

F) RESPUESTAS DE LAS PLANTAS FRENTE AL ATAQUE DE INSECTOS

Son diferentes las respuestas de las plantas a los daños ocasionados por insectos plaga; por ejemplo, los daños en el tejido de la planta, causan cambios metabólicos como alteraciones en los niveles hormonales, incremento en la respiración, síntesis de proteínas y quizá también cambios en los niveles de sustancias secundarias tóxicas para microorganismos y herbívoros. (Edwards, y col. 1983).

Son cuatro grupos principales de mecanismos de defensa que una planta puede desarrollar como los físicos, fenológicos, de asociación y químicos, estos últimos de gran importancia para las plantas, basados en la producción de metabolitos secundarios, (Anaya, 1998), con diversas estructuras químicas como los fenoles, flavonoides, quinonas, alcaloides y terpenos. Estos compuestos pueden estar almacenados como glucósidos en las vacuolas de las plantas (Hösel, 1981); y quizá éstos se hidrolizan cuando el tejido de la planta está dañado, liberándose agliconas que son potencialmente tóxicas (Edwards, y col. 1983).

G) ESTUDIOS QUÍMICOS DE MAÍZ

Algunos de los trabajos reportan que la resistencia de ciertos genotipos de maíz como el Zapalote Chico frente a *Heliothis zea* está asociada con la toxicidad de sus estigmas. En 1989 Snook, y col., hicieron un análisis de flavonoides utilizando cromatografía líquida de alta resolución, y demostraron que la actividad de los estigmas puede atribuirse a un flavonoide identificado como maysina (2''-O- α -L-ramnosil-6-C-6-desoxi-xilo-hexo-4-ulosil luteolina), siendo un factor de antibiosis en la resistencia.

Wiseman y col. (1992), evaluaron el efecto de la maysina, ácido clorogénico, epimaysina y 3-metoximaysina, compuestos presentes en estigmas de diferentes variedades de maíz sobre el crecimiento de las larvas de *Helicoverpa zea*, encontrando que el peso de las larvas disminuye al suministrarles estos compuestos. Encontraron además que la maysina es un factor de antibiosis en la resistencia en mayor proporción que el ácido clorogénico.

Bergvinson (1993), registró que la resistencia del maíz frente al barrenador europeo del maíz *Ostrinia nubilalis* (Hübner) es atribuible al ácido hidroxámico DIMBOA (2,4-dihidroxy-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona), el cual disminuye su desarrollo e incrementa la mortandad (Maxwell, 1984).

Guang Yong, y col. (1994), estudiaron la importancia que ejercen los lípidos cuticulares en las hojas de plantas frente a *Spodoptera frugiperda*. Las larvas muestran preferencia sobre hojas a las que se les ha removido los lípidos cuticulares.

Un grupo importante de compuestos químicos que se forman como respuesta de las plantas a los daños inducidos por insectos son los ácidos fenólicos.

H) ÁCIDOS FENÓLICOS (ÁCIDOS HIDROXICINÁMICOS)

Uno de los cambios más importantes en la evolución de las plantas fue la biosíntesis de compuestos fenólicos, los cuales están presentes en todas las plantas de la tierra (Swain, 1979). Son importantes, porque se transforman en varios derivados combinados con proteínas, como fitoalexinas, diversos flavonoides (antocianinas) y lignina que además de la función de sostén, también proporciona protección contra el ataque de patógenos y el consumo por insectos (Swain, 1979 y Salisbury, 1994). Durante los diferentes estadios de desarrollo de la planta la concentración de estos compuestos puede incrementar, según el daño en la planta en defensa ante el ataque de un depredador (Morse, y col. 1991).

Todos los compuestos fenólicos poseen un anillo aromático al que se unen diversos grupos sustituyentes como hidroxilo, carboxilo y metoxilo, y a menudo otras estructuras cíclicas no aromáticas (Salisbury, 1994), libres o ligadas con otra función, éster o éter. (Bruneton, 1991), y quizá se encuentran ligados con azúcares y péptidos (Harborne, 1985).

Los ácidos fenólicos se pueden dividir en dos grupos: los solubles o libres y los ligados a pared celular. Siendo el contenido generalmente más bajo en los ácidos fenólicos libres en comparación con los ácidos fenólicos conjugados unidos a un azúcar (Bergvinson, 1993).

Estudios acerca de la biosíntesis de estos compuestos han dilucidado la ruta principal, de la que se derivan los ácidos fenólicos, los cuáles se encuentran íntimamente relacionados con el proceso de lignificación de los tejidos vegetales.

Dos compuestos fosforilados son los precursores de los ácidos fenólicos así como de algunos aminoácidos, éstos son el fosfoenol piruvato (PEP) de la ruta glucolítica de la respiración y el eritrosa-4-fosfato, de la ruta respiratoria de los fosfatos de pentosa y del ciclo fotosintético de Calvin. Estos dos compuestos combinados producen un compuesto 3-deosoxy-D-arabino-heptulosónico que se cicliza produciendo el ácido deshidroquinico (Salisbury, 1994), éste se hidrata y produce un intermediario, que por reducción se convierte en el ácido shikímico (Dominguez.1985); el cual por adición de una molécula de fosfoenol pirúvico, pasa al corismato precursor de los aminoácidos como la tirosina, fenilalanina y triptofano. La fenilalanina es de particular importancia ya que de ésta se deriva el ácido cinámico precursor de la mayoría de los compuestos fenólicos (Bergvinson, 1993)

La formación del ácido cinámico, ocurre por una desaminación, ésta reacción se cataliza por la fenilalanina amonio liasa (PAL), subsecuentemente éste ácido se convierte en el ácido p-cumárico por adición de un átomo de oxígeno del O_2 y un átomo de hidrógeno del NADPH. Una segunda adición de otro grupo hidroxilo adyacente al p-cumarato por una reacción similar a la anterior, forma al ácido caféico. Una tercera adición del grupo metilo de la s-adenosilmetionina a un grupo OH del ácido caféico, forma al ácido ferúlico. A su vez el ácido caféico forma un éster con un alcohol derivado de la ruta del ácido shikímico el ácido quínico, para producir el ácido clorogénico. (Salisbury, 1994) Fig. 3.

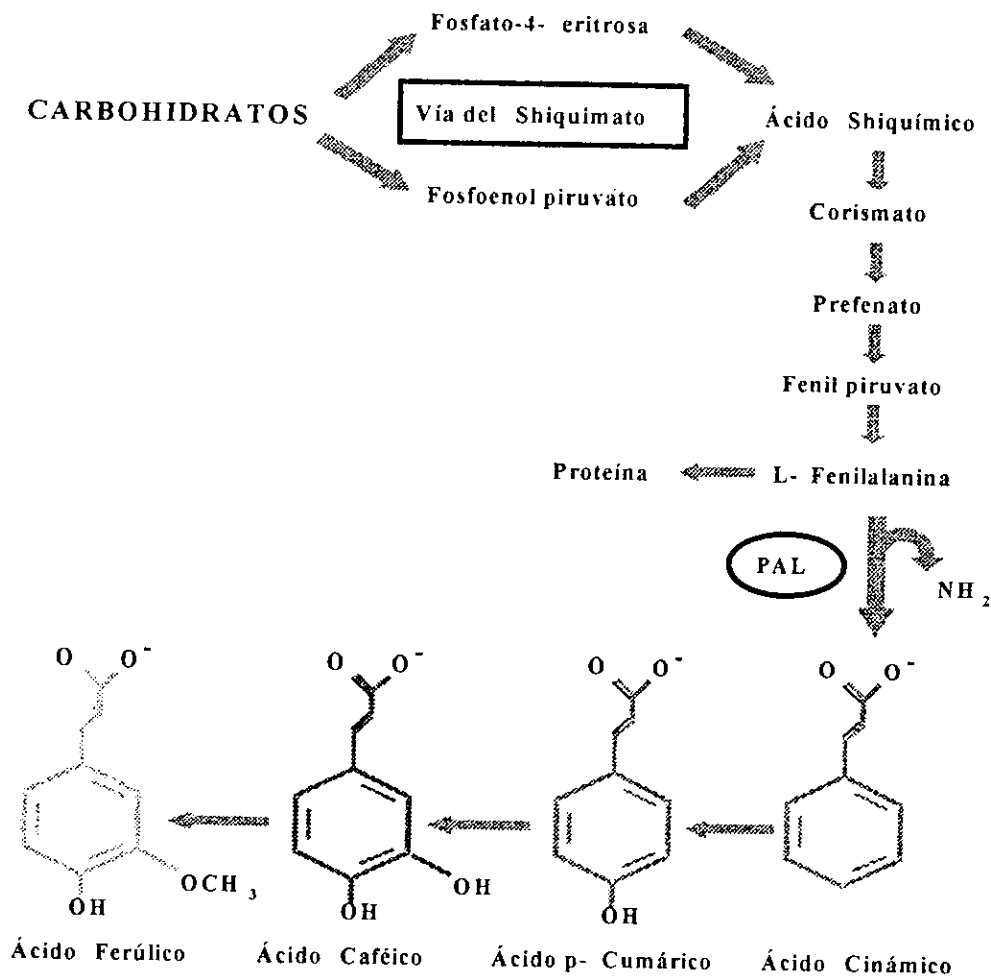


Fig. 3. Biosíntesis de ácidos fenólicos (Modificado de Bergvinson, 1993).

Fulcher y col. (1972) observaron que los ácidos fenólicos forman parte del mecanismo de inhibición contra la invasión de microorganismos, en la aleurona y pericarpio de granos de maíz, actuando como agentes protectores o como inhibidores de crecimiento.

Los ácidos ferúlico y cumárico son los principales constituyentes fenólicos de la pared celular de las gramíneas, y los que más prevalecen en hoja y grano de maíz (Hartley y col., 1978 citado por Bergvinson, 1993), y los que más se encuentran en forma conjugada que ningún otro compuesto fenólico (Harborne, 1985), actuando como factores de resistencia en las plantas, ante el ataque de insectos sirviéndoles como fagoestimulantes (Dowd, 1990).

Aparentemente, estos ácidos, tales como el ácido cumárico o el caféico, así como sus derivados metilados como el ácido ferúlico y el ácido sinápico, se encuentran universalmente presentes en las plantas superiores en forma libre o esterificados (Goodwin y Mercier, 1983).

Yamamoto y Towers (1985) indicaron otras posibles funciones para estos ácidos ligados a la pared celular, una de éstas, sería la de regular el crecimiento de la célula mediante de cambios conformacionales en los polímeros de la pared celular, causados por la dimerización del ácido ferúlico ligado a la pared.

Argilés y López (1986) mencionaron que los fenoles tienen una clara función repelente, siendo los taninos los principales responsables del sabor astringente y amargo de muchas plantas. Otro de los fenoles que se caracteriza por ser tóxico, es la rotenona tóxica para insectos, dado que es un potente inhibidor de la respiración mitocondrial.

Serratos y col. (1987), reportaron el efecto de extractos de ácidos fenólicos de granos de maíz, adicionados a dietas artificiales, sobre el comportamiento alimenticio de insectos adultos de *Sitophilus zeamais*. Estos autores encontraron que dichos extractos inhiben el consumo que hace el insecto del alimento. Resultados semejantes obtuvieron Tipping y col. (1987), al mostrar que algunas fracciones de extractos de maíz resistente presentaban mayor repelencia contra el gorgojo del maíz.

En el desarrollo de la pared celular, el ácido ferúlico predomina en paredes celulares primarias (Nishitani y Nevins, 1990) y el ácido p-cumárico está asociado con la formación de paredes secundarias y correlacionado con la formación lignina (Jung, 1989).

Arnason y col. (1992), en sus trabajos con líneas resistentes y susceptibles de maíz frente a diferentes plagas de insectos reportan que derivados fenólicos como el ácido E-ferúlico y p-cumárico contribuyen a la resistencia cuando estos son suministrados a las dietas de las larvas.

La acumulación de los ácidos hidroxicinámicos ocurre en todos los tejidos. Estos compuestos son constituyentes de la pared celular en vegetales, pero existe una gran variación en cuanto a cantidad y clase de dichos metabolitos en los diferentes tejidos. (Serratos, 1993).

Bergvinson y col. (1995), encontraron que diferentes genotipos de maíz tienden a reducir el valor nutricional, cuando son atacadas por larvas disminuyendo el contenido de nitrógeno y elevando los niveles de ácidos fenólicos en fibras de la pared celular.

JUSTIFICACIÓN

En este trabajo se tomaron en cuenta los diferentes trabajos de la importancia de los ácidos fenólicos y de los compuestos del tipo de los flavonoides en la resistencia del maíz, frente a diversas plagas de insectos, que ocasionan daños en las diferentes etapas de crecimiento y por ende una disminución en el rendimiento de este cultivo a nivel mundial. Por esta razón se consideró necesario realizar el estudio de estos ácidos fenólicos y su posible efecto fisiológico en plantas de maíz previamente seleccionadas por el programa de maíz del CIMMyT, frente a dos insectos plaga de gran importancia en nuestro país.

OBJETIVO GENERAL

Determinar las diferencias de concentración de algunos ácidos fenólicos y compuestos de tipo flavonoides en dos líneas de maíz, a fin de determinar su influencia en la resistencia frente al gusano cogollero (*S. frugiperda*) y al gusano barrenador (*D. grandiosella*).

OBJETIVOS PARTICULARES

- Analizar el tejido foliar en diferentes etapas de desarrollo posteriores a la infestación artificial con larvas neonatas de cada una de las plagas y cuantificar la concentración de ácidos fenólicos.
- Determinar la concentración de maysina y compuestos análogos en estigmas de las líneas antes mencionadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

A) SIEMBRA E INFESTACION DEL MATERIAL

Las semillas utilizadas en este trabajo fueron suministradas por el banco de germoplasma del "Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo" (CIMMyT), utilizando dos líneas de maíz con diferente respuesta frente a *Spodoptera frugiperda* y *Diatraea grandiosella*; la CML 131, susceptible y CML 67, resistente.

Las semillas fueron sembradas durante el ciclo 1995 B (Mayo-Octubre); en el campo experimental del CIMMyT en Tlaltizapán, Morelos, (ubicado geográficamente a 18° 41' latitud norte y 99° 08' longitud oeste, a una altitud de 940 m, con una precipitación media anual de 840 mm y una temperatura de 23° C; el clima es cálido subhúmedo con precipitación en verano y el tipo de suelo es vertisol negro desarrollado por el subsuelo calcáreo que es característico de esta región. (López, 1997)),

Después de cuatro semanas, cuando las plantas de maíz tenían de 6 a 8 hojas completamente desarrolladas, se infestaron con larvas neonatas (30 larvas por planta) de *Spodoptera frugiperda* o *Diatraea grandiosella*, en la axila de la hoja, en la intersección del nudo, de acuerdo a la metodología empleada por CIMMyT.

B) COLECTA DEL MATERIAL

Una semana después de la infestación, las hojas de cada una de las líneas infestadas con larvas de los dos insectos fueron colectadas; durante el etapa de crecimiento activo 2 3 y 4 semanas después de la infestación. Las hojas se seccionaron de tal forma que se obtuvieron

tres diferentes tejidos, adulto, intermedio y joven (amarillo, verde-amarillo y verde), posteriormente se congelaron a -20°C , hasta su análisis en el laboratorio, a fin de realizar las extracciones para la determinación de la concentración de ácidos fenólicos.

C) SECADO Y MOLIENDA DEL MATERIAL

Las diferentes partes seccionadas y congeladas se llevaron a secado completo mediante liofilización, posteriormente se molieron hasta obtener un polvo fino y proceder a la extracción de los ácidos fenólicos.

D) EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS FENÓLICOS

La extracción de los ácidos fenólicos se realizó de acuerdo a la metodología reportada por Bergvinson (1995). Éstos fueron extraídos de 0.5 g de tejido seco con MeOH al 70% durante 20 seg a temperatura ambiente; se homogeneizó el tejido con un polytron (modelo PT-1200, Brinkmann, Westbury, N.Y.). Después se centrifugó a 500 g por 10 min; se reunieron los sobrenadantes y el metanol fue removido en un rotavapor (35°C), el pH se ajustó a 2.0 usando HCl 1 M.

La fracción acuosa fue extraída a temperatura ambiente con acetato de etilo (3X50 ml), llevándose a sequedad con un rotavapor. Las muestras se refrigeraron hasta su análisis por HPLC.

Después de la extracción, el remanente fue lavado en un embudo Büchner con 30 ml de cada uno de los siguientes disolventes: agua, metanol, hexano, acetato de etilo y acetona para remover la clorofila, a fin de obtener un extracto crudo de pared celular.

A este remanente se le adicionaron 20 ml de NaOH 2M y se agitó durante 4 hr en atmósfera de N₂, para hacer una hidrólisis de la pared celular, en donde se encuentran los ácidos fenólicos. Estas muestras fueron neutralizadas con HCl 6 M y el pH se ajustó a 2.0. Después de la centrifugación los sobrenadantes fueron extraídos con acetato de etilo (3X50 ml), estas fracciones se reunieron y fueron llevadas a sequedad y almacenadas a -20°C hasta su análisis por HPLC (Bergvinson, 1995).

E) ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC)

Todos los análisis fueron realizados con un cromatógrafo Perkin-Elmer (Beaconsfield, Inglaterra), este sistema consiste en colocar un detector registrador diodo LC 480 y Perkin-Elmer LC 250 que consta de una bomba Varian 9012, automuestreador Varian 9300, un detector AD/ UV 278 nm con una columna Lichrochart RP 18 250X4.6 mm, tamaño de partícula 5-µm, Beckman, Fullerton, California.

Los extractos solubles se suspendieron en 4 ml de MeOH al 50% y se centrifugaron a 500 g por 10 min para remover el exceso de clorofila. El sobrenadante se filtró e inyectó en la columna. El sistema de disolventes fue: (A) HPO₃ 0.1 M, (B) MeOH, en un gradiente lineal de 80% A en 2 min, en 9 min al 60% A por 2 min, en 10 min al 20% A por 4 min y en 5 min al 80% de A, el flujo fue de 1 ml/min. Los picos se identificaron por la línea del espectro UV y el espigado de los extractos con standards.

F) DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE MAYSINA Y SUS ANÁLOGOS

Después de la emergencia de los estigmas de cada una de las líneas, éstos fueron protegidos de la polinización y tres días después se cortaron, colectaron y congelaron hasta su traslado al laboratorio. Posteriormente cada una de las muestras se secaron mediante liofilización y se colocaron en metanol al 100%, a una temperatura de -10° C para su posterior análisis mediante HPLC de acuerdo a la metodología reportada por Snook, y col. 1989), utilizando una columna 4.6 X 250 mm, tamaño de partícula $5\mu\text{m}$, Beekman Norcross, GA, adicionándole a ésta $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$, en un gradiente lineal de 10% a 90% de MeOH en 35 min, a un flujo de 1 ml/min, y detección de 340nm, en un Hewlett-Packard.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos acerca de la concentración de los diferentes **ácidos fenólicos sin hidrolizar** en las dos líneas de maíz, infestadas con *Diatraea grandiosella* (Tabla I), nos muestran lo siguiente:

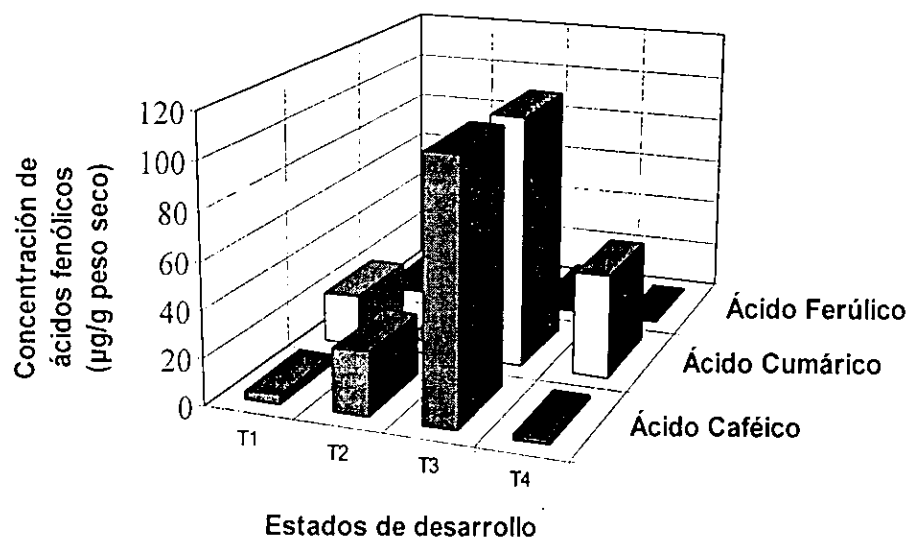
Tabla I.- Cuantificación de ácidos fenólicos hidrolizados y no hidrolizados en dos líneas de maíz, infestadas con *Diatraea grandiosella*. ($\mu\text{g/g}$ peso seco)

CML 67	CAFÉICO		CUMÁRICO		FERÚLICO	
	S/HIDROLIZAR	HIDROLIZADA	S/HIDROLIZAR	HIDROLIZADA	S/HIDROLIZAR	HIDROLIZADA
T1	3.88	46.58	21.58	597.23	5.41	1615.73
T2	26.86	205.38	5.68	2503.67	16.58	6019.43
T3	109.65	56.38	106.98	691.05	6.03	1364.17
T4	1.57	221.49	43.78	1416.95	0	2615.9
CML 131						
T1	28.42	12.92	40.97	305.11	2.62	1118.03
T2	27.72	20.05	43.09	838.56	5.48	1904.08
T3	97.65	59.33	140.32	382.28	3.23	1296.59
T4	0	148.48	1.03	1297.56	0	2771.4

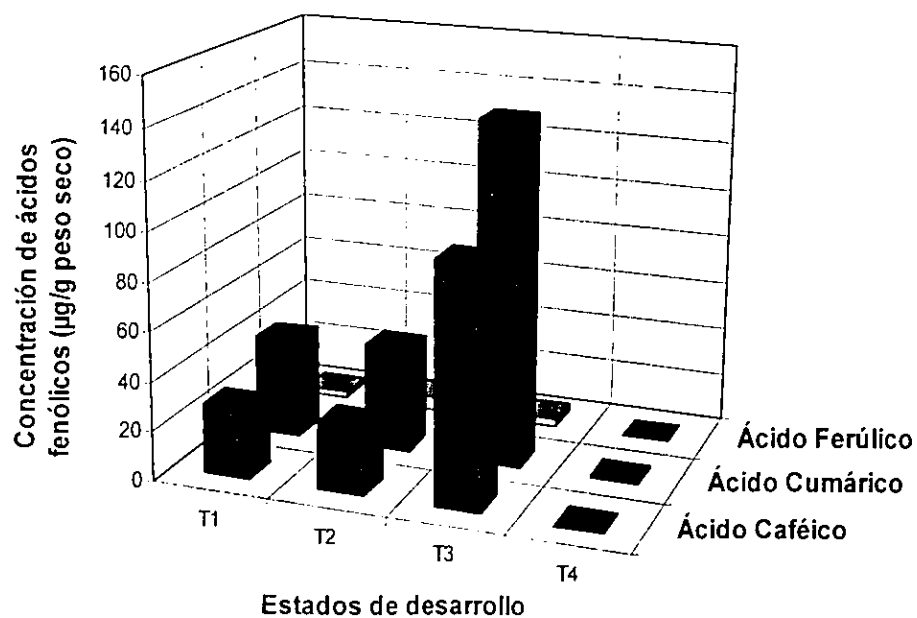
Ácido Caféico:

Se observa que en la línea CML 67 hay un incremento en la concentración hasta el T3, disminuyendo considerablemente en T4 (gráficas 1 y 3). Para la línea CML 131 se observa que para T1 y T2 presentan una concentración similar; mientras que en T3 presenta un incremento al igual que en la línea CML 67, y en T4 hay una disminución drástica (gráficas 2 y 4).

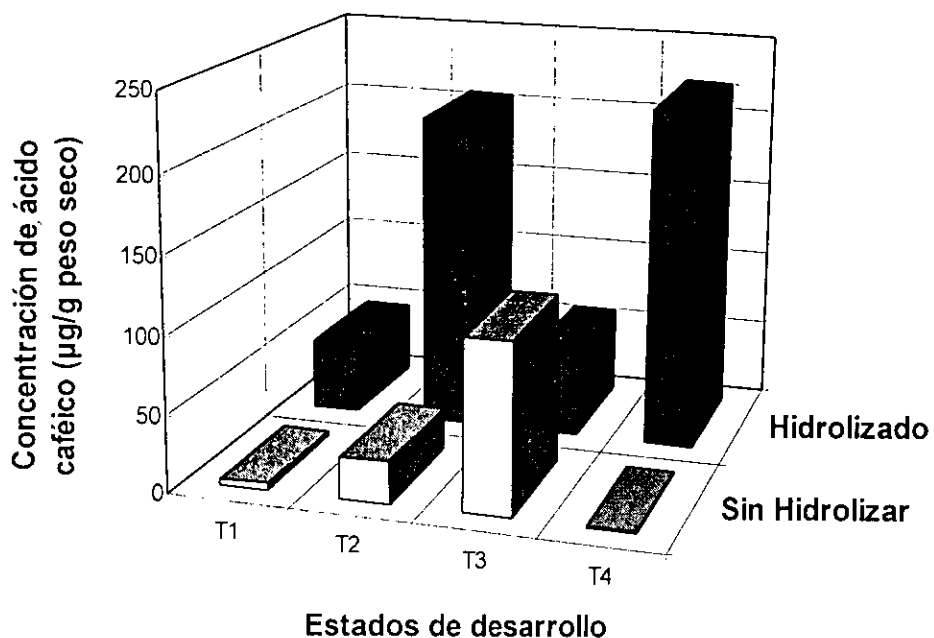
Gráfica 1.- Concentración Ácidos Fenólicos sin hidrolizar en la línea de maíz CML 67, en diferentes estados de desarrollo infestadas con *D. grandiosella*



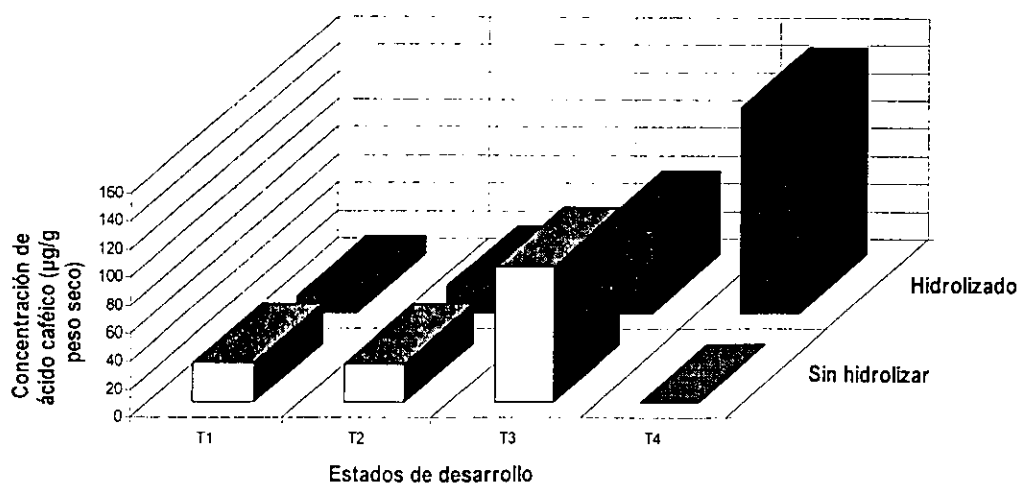
Gráfica 2.- Concentración de Ácidos Fenólicos sin hidrolizar en la línea de maíz CML 131, en diferentes estados de desarrollo infestadas con *D. grandiosella*



Gráfica 3.- Concentración de Ácido Caféico hidrolizado y sin hidrolizar, en la línea de maíz CML 67 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *D. grandiosella*



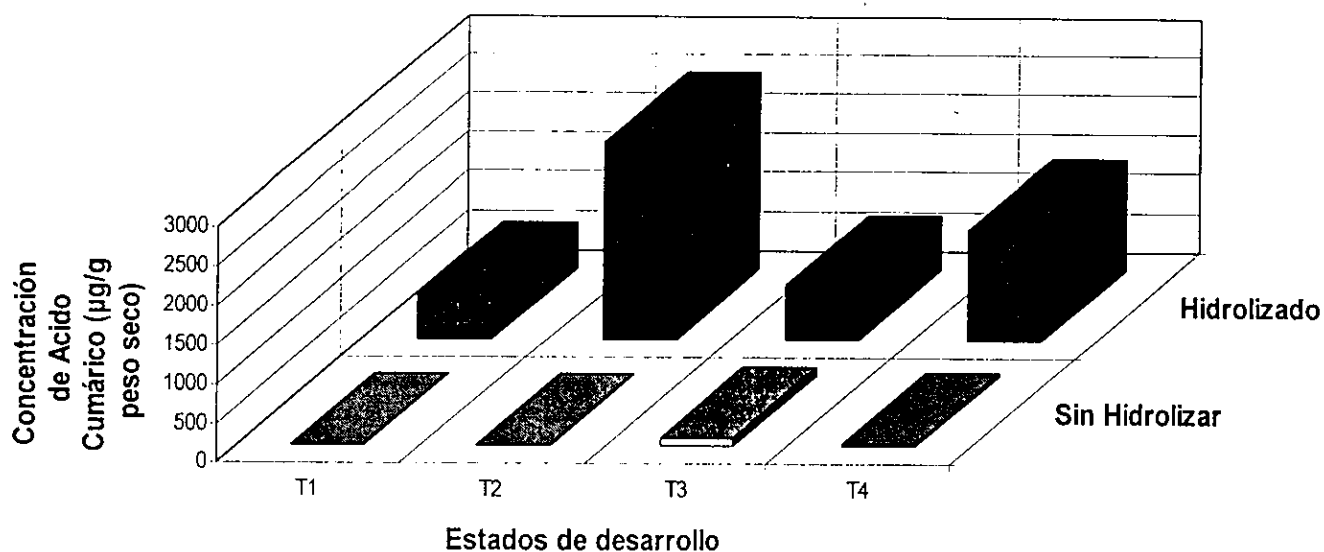
Gráfica 4.- Concentración de Ácido Caféico hidrolizado y sin hidrolizar, en la línea de maíz CML 131 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *D. grandiosella*



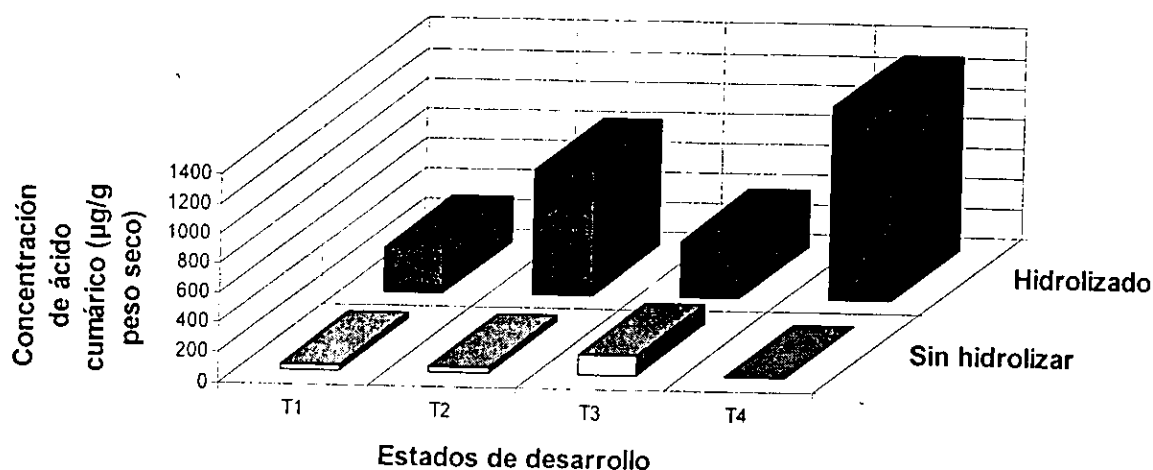
Ácido Cumárico:

Se observa una disminución en T2 y T4, en relación a T1 y T3 respectivamente para la línea CML 67 (gráficas 1 y 5). Sin embargo, en CML 131 hay un incremento en la concentración hasta T3, disminuyendo en T4 (gráficas 2 y 6).

Grafica 5.- Concentración de Ácido Cumárico hidrolizado y sin hidrolizar, en la línea de maíz CML67 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *D. grandiosella*



Gráfica 6.- Concentración de Ácido Cumárico hidrolizado y sin hidrolizar, en la línea de maíz CML131 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *D. grandiosella*

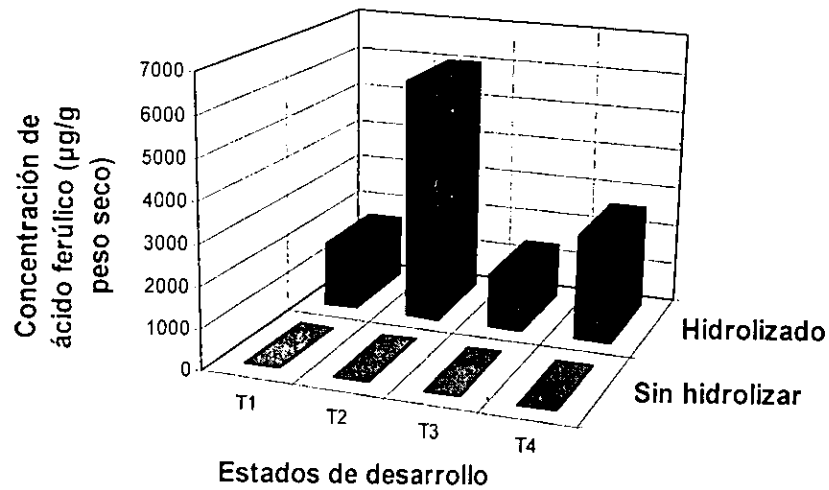


Ácido Ferúlico:

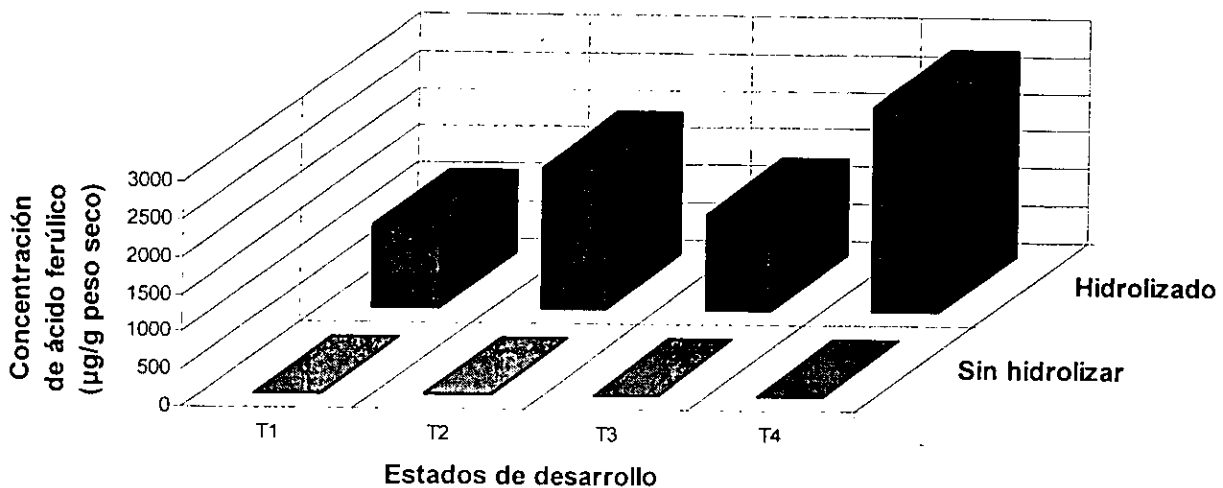
Se detectó un incremento en T2 en las dos líneas con respecto a T1 y T3, al igual que en T4 una disminución en ambas líneas. Cabe mencionar que este ácido es el que presenta los valores más bajos de concentración de todos los ácidos cuantificados (gráficas 1 y 2, 7 y 8).

Estos resultados muestran que el tiempo de desarrollo ejerce una importante influencia en la síntesis de los ácidos caféico y cumárico, asociado al daño que produce el insecto. Por otra parte, la concentración del ácido ferúlico, es baja en comparación con los ácidos anteriores, sin embargo la concentración incrementa drásticamente en el material hidrolizado, siendo mayor que los otros dos.

Gráfica 7.- Concentración de Ácido Ferúlico hidrolizado y sin hidrolizar, en la línea de maíz CML67 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *D. grandiosella*



Gráfica 8.- Concentración de Ácido Ferúlico hidrolizado y sin hidrolizar, en la línea de maíz CML131 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *D. grandiosella*

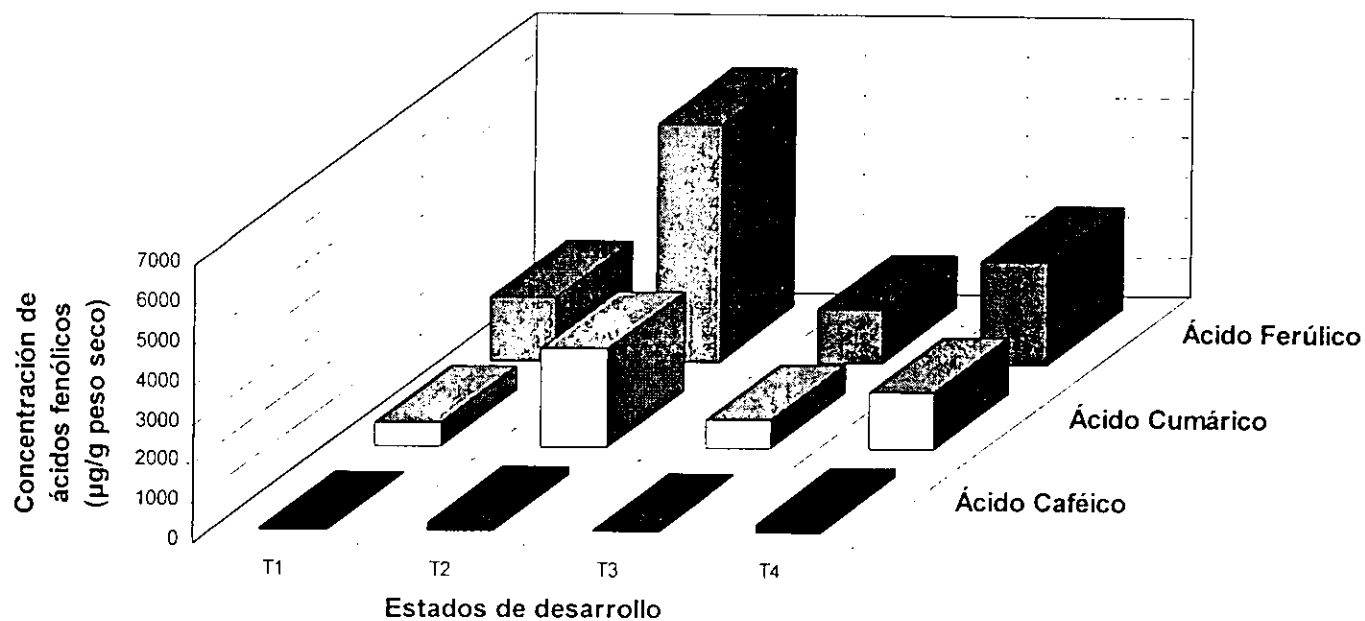


Los resultados obtenidos de la concentración de los diferentes **ácidos fenólicos hidrolizados** en las dos líneas de maíz, infestados con *Diatraea grandiosella* (Tabla I) muestran lo siguiente:

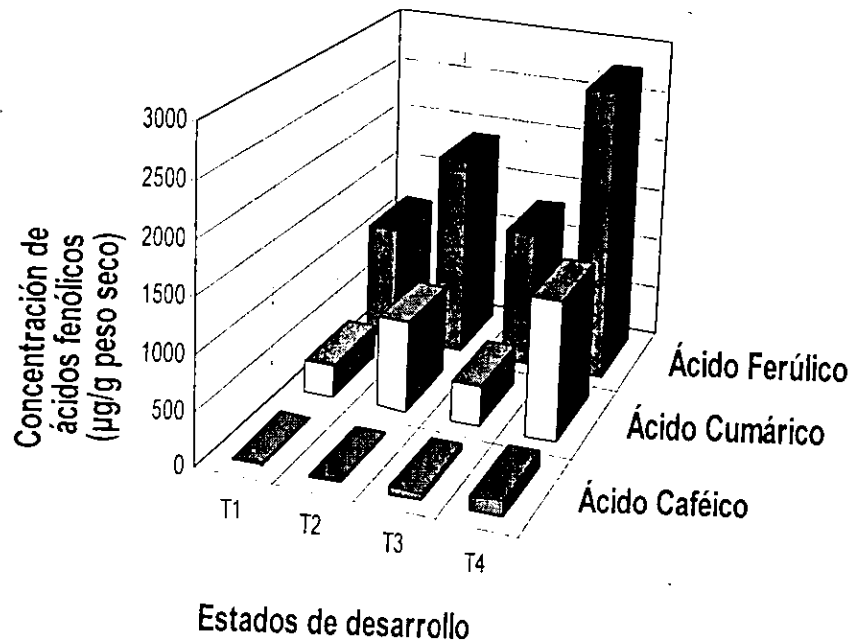
Ácido Caféico:

En la línea CML 67 se observa un aumento en T2 y T4 con respecto a T1 y T3, presentando mayor concentración en T4 (gráfica 9). En CML 131 hay un aumento a través del tiempo (gráfica 10).

Gráfica 9.- Concentración de Ácidos Fenólicos hidrolizados en la línea de maíz CML 67, en diferentes estados de desarrollo infestadas con *D. grandiosella*



Gráfica 10.- Concentración de Ácidos Fenólicos hidrolizados en la línea de maíz CML 131, en diferentes estados de desarrollo infestadas con *D. grandiosella*



Ácido Cumárico:

Se observa el mismo comportamiento que para el ácido caféico: incremento en T2 y T4 con respecto a T1 y T3. En este caso la mayor concentración se detectó en T2 (gráfica 9).

Un patrón similar se observa para CML 131, pero la mayor concentración en T4 (gráfica 10).

Ácido Ferúlico:

Ocurrió el mismo comportamiento que en los ácidos anteriores:

Un incremento en T2 y T4 con respecto a T1 y T3, siendo igual el T2 de mayor concentración (gráfica 9).

Para CML 131 se observó el mismo patrón, siendo en T4 la mayor concentración (gráfica 10).

Los resultados obtenidos para los tres ácidos en los diferentes tiempos de desarrollo indican que para el análisis del material hidrolizado, existe un fuerte incremento en ácido cumárico y ferúlico en la línea CML 67, sin embargo para CML 131 los incrementos fuertes se detectaron hasta T4. Lo que nos podría indicar una síntesis “temprana” en la línea CML 67, que puede estar relacionada con su capacidad de resistencia. Ya que estos compuestos se encuentran ligados a la pared celular. En trabajos previos se ha observado que los ácidos ferúlico y cumárico intervienen en el desarrollo y son los principales constituyentes de la pared celular de las gramíneas y los que más prevalecen en hoja (Nishitani, y col. 1990, Hartley, y col. 1978 citado por Bergvinson 1993 y Serratos, 1993). A su vez cuando la concentración de éstos compuestos se ve incrementada, existe una disminución de los mismos en forma libre (Bergvinson, 1993).

Los resultados obtenidos en la concentración de los diferentes **ácidos fenólicos sin hidrolizar** en las dos líneas de maíz, infestadas con *Spodoptera frugiperda* (Tabla II), muestran lo siguiente:

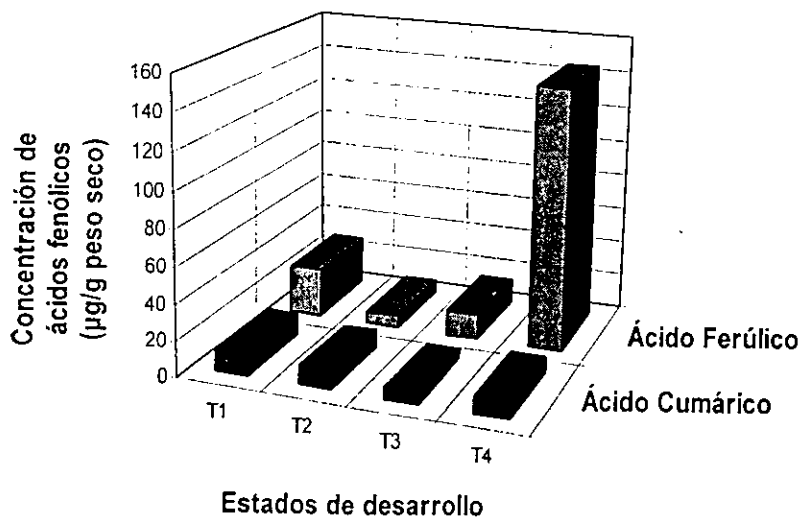
Tabla II.- Cuantificación de ácidos fenólicos hidrolizados y no hidrolizados en dos líneas de maíz, infestadas con *Spodoptera frugiperda*. ($\mu\text{g/g}$ peso seco)

CML67	CUMARICO		FERULICO	
	S/ HIDROLIZAR	HIDROLIZADA	S/ HIDROLIZAR	HIDROLIZADA
T1	12.59	64.73	27.56	224.27
T2	10.28	420.98	6.99	1231.34
T3	6.07	421.82	13.85	1405.61
T4	9.03	735.73	145.32	1919.31
CML131				
T1	4.28	114.39	28.79	379.14
T2	21.34	125.8	14.18	502.27
T3	13.77	310.51	6.66	1289.69
T4	59.03	355.07	41.38	717.51

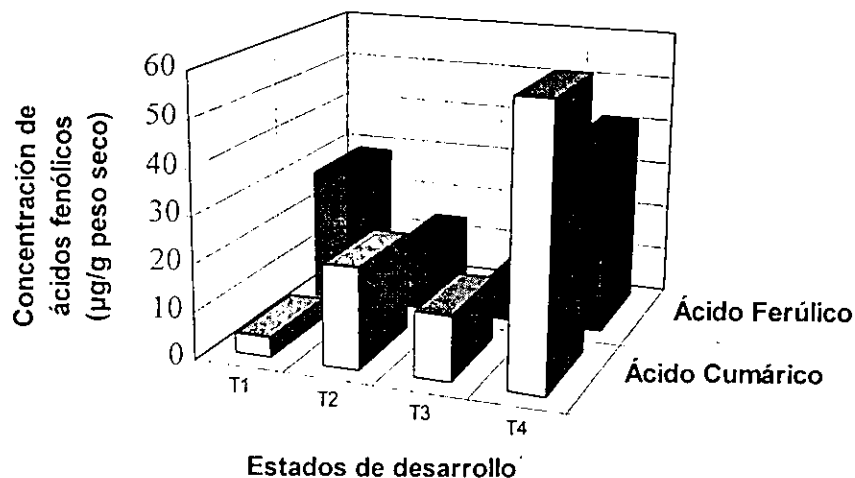
Ácido Cumárico:

Observamos en la línea CML 67 una disminución paulatina hasta T3, incrementándose ligeramente en T4 (gráficas 11 y 13). En T2 y T4, hubo un incremento en la concentración con respecto a T1 y T3, en CML 131 (gráficas 12 y 14).

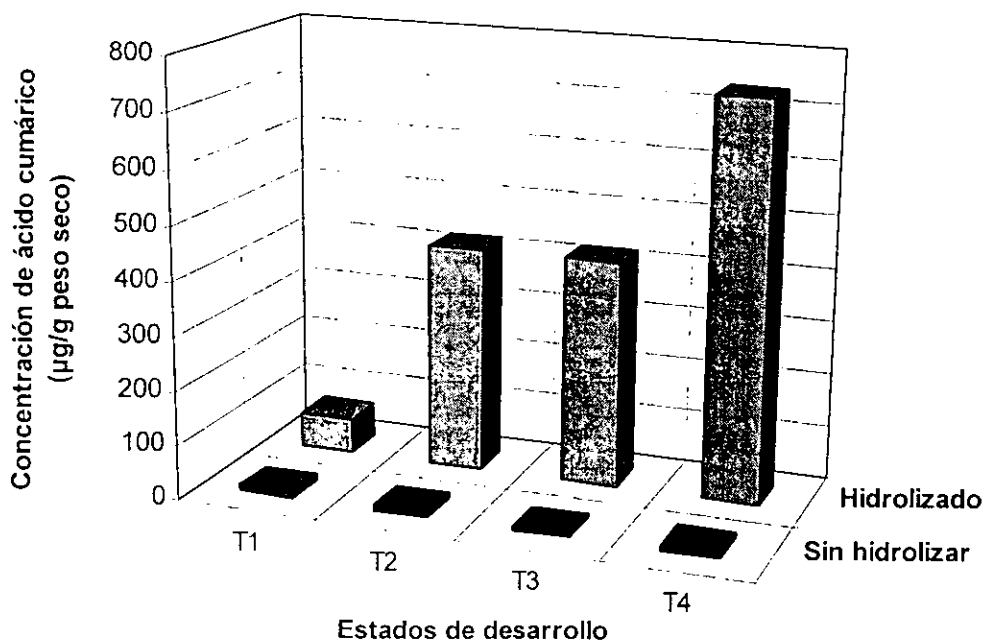
Gráfica 11.- Concentración de Ácidos Fenólicos sin hidrolizar en la línea de maíz CML 67, en diferentes estados de desarrollo infestadas con *S. frugiperda*



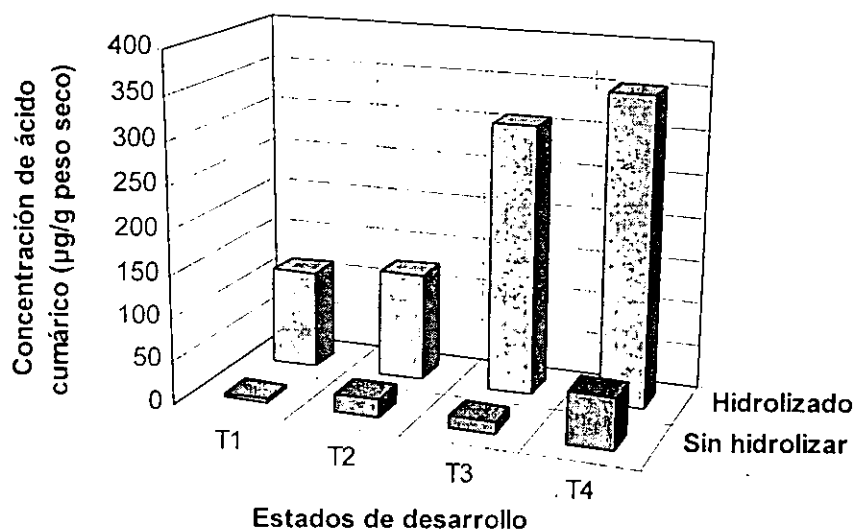
Gráfica 12.- Concentración de Ácidos Fenólicos sin hidrolizar en la línea de maíz CML 131, en diferentes estados de desarrollo infestadas con *S. frugiperda*



Gráfica 13.- Concentración de Ácido Cumárico hidrolizado y sin hidrolizar en la línea de maíz CML 67, en diferentes estados de desarrollo infestadas con *S. frugiperda*



Gráfica 14.- Concentración de Ácido Cumárico hidrolizado y sin hidrolizar en la línea de maíz CML 131, en diferentes estados de desarrollo infestados con *S. frugiperda*

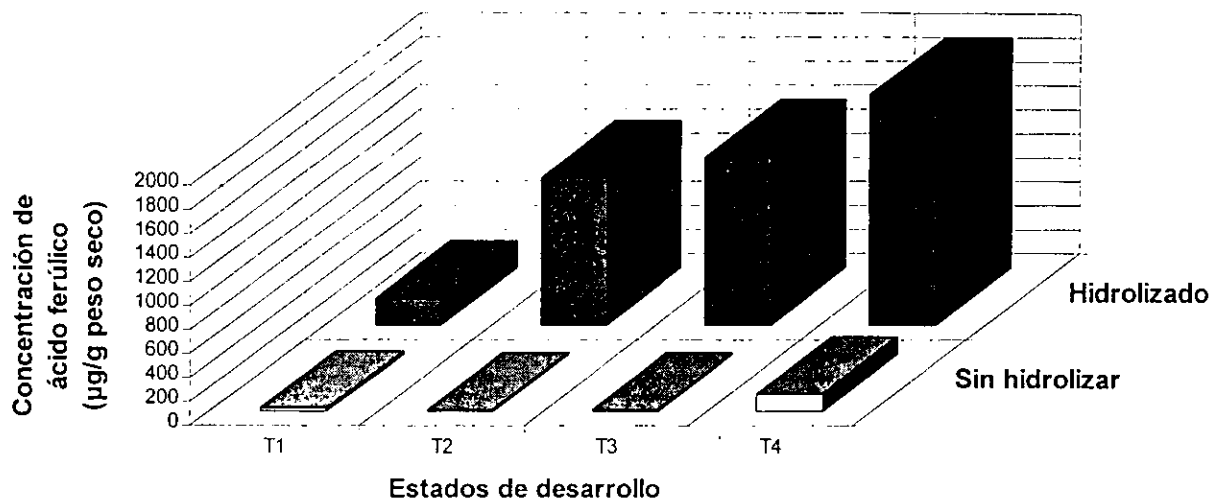


Ácido Ferúlico:

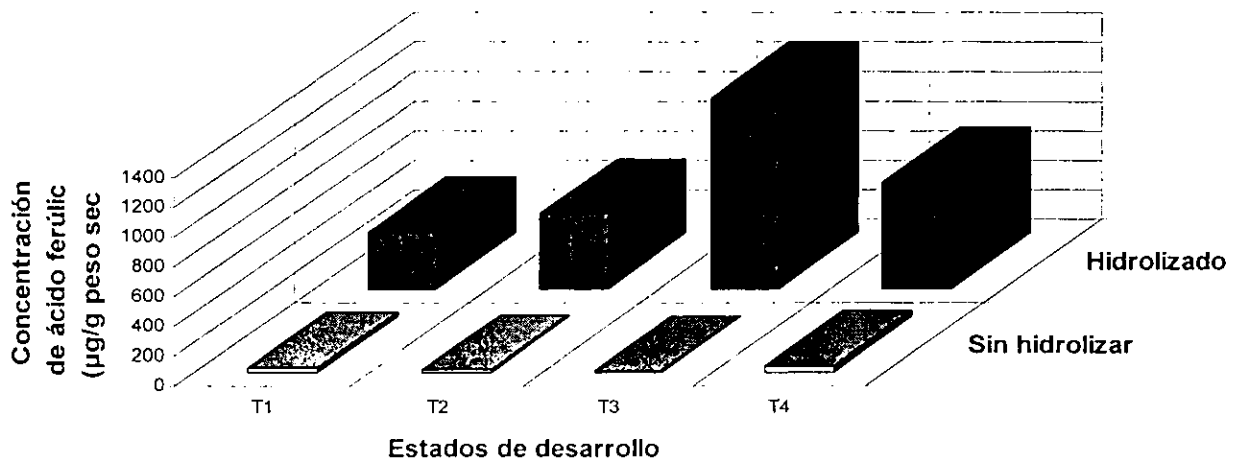
Se observó en la línea CML 67 una disminución en T2 con respecto a T1, un ligero incremento en T3 y aún mayor en T4 (gráficas 11 y 15). En CML 131 hay una disminución hasta T3, incrementándose la concentración en T4 (gráficas 12 y 16).

En síntesis se observó que, las concentraciones de éstos ácidos fenólicos sin hidrolizar, son menores que para los hidrolizados. Así mismo Bergvinson en 1993, observó que el contenido generalmente era más bajo en los ácidos fenólicos libres en comparación con los ácidos fenólicos conjugados unidos a un azúcar. Presentándose una mayor concentración en T4, excepto para el ácido cumárico de la línea CML 67, que presenta mayor concentración en T1.

Gráfica 15.- Concentración de Ácido Ferúlico hidrolizado y sin hidrolizar, en la línea de maíz CML 67 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *S. frugiperda*



Gráfica 16.- Concentración de Ácido Ferúlico hidrolizado y sin hidrolizar, en la línea de maíz CML 131 en diferentes estados de desarrollo, infestadas con *S. frugiperda*



Los resultados obtenidos de la concentración de los diferentes **ácidos fenólicos hidrolizados** en las dos líneas de maíz, infestadas con *Spodoptera frugiperda* (Tabla II), muestran lo siguiente:

Ácido Cumárico:

Hay un aumento a través del tiempo en ambas líneas aunque menor para CML 131 (gráficas 13 y 14).

Ácido Ferúlico:

En la línea CML 67 hay un incremento a través del tiempo (gráfica 15), así como para CML 131 hasta T3 y luego se detecta una disminución en T4 (gráfica 16).

En conclusión, se observó que los ácidos cumárico y ferúlico incrementan su concentración en la línea CML 67, siendo mayor para éste último. Este comportamiento podría estar relacionado con el daño que ocasiona el insecto mucho menos agresivo que *D. grandiosella*

Resultados similares obtuvo Morse en 1991, observó que la concentración de estos compuestos puede incrementar según el daño en la planta como defensa al ataque de un depredador.

Los resultados obtenidos para **Maysina y compuestos análogos** (Fig. 4) detectados en estigmas de las dos líneas de maíz, infestadas con *D. grandiosella* o *S. frugiperda* (Tabla III), muestran que para:

A (2''-O- α -L-ramnosil-6-C-fuscossil-luteolina) **B**

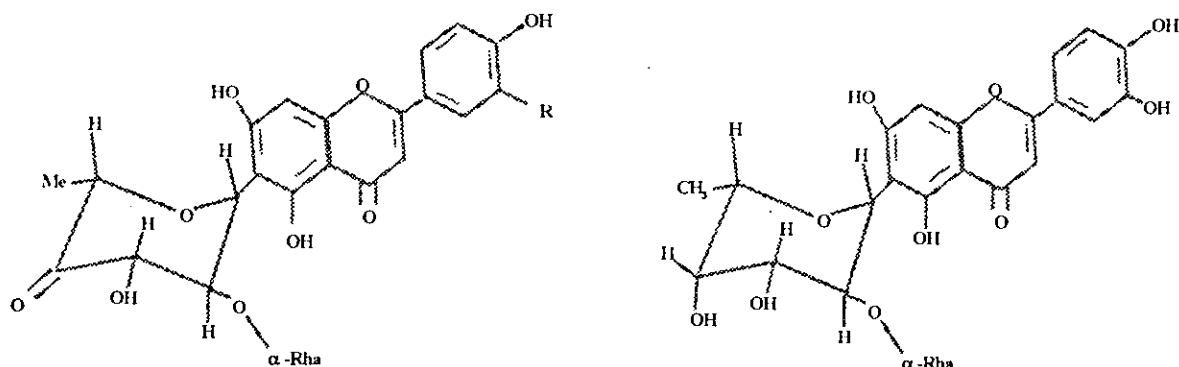


Fig. 4. Estructuras químicas: (A) Maysina (R= OH) y Apimaysina (R= H), (B) 4''-OH-maysina

Tabla III.- Concentración de maysina y compuestos análogos en estigmas de las dos líneas de maíz, infestadas con *D. grandiosella* o *S. frugiperda*. ($\mu\text{g/g}$ peso seco)

Compuestos	<i>D. grandiosella</i>		<i>S. frugiperda</i>	
	CML 67	CML 131	CML 67	CML 131
Maysina	0.33	0	0.59	0.185
4''-OH-Maysina	0	10846	0	0.661
Apimaysina	5.93	1.879	12.52	0.595

Maysina:

Se observó que la concentración es mayor en la línea CML 67, que en la CML 131, y principalmente en las atacadas con *S. frugiperda* (gráficas 17 y 18).

4''-OH-Maysina:

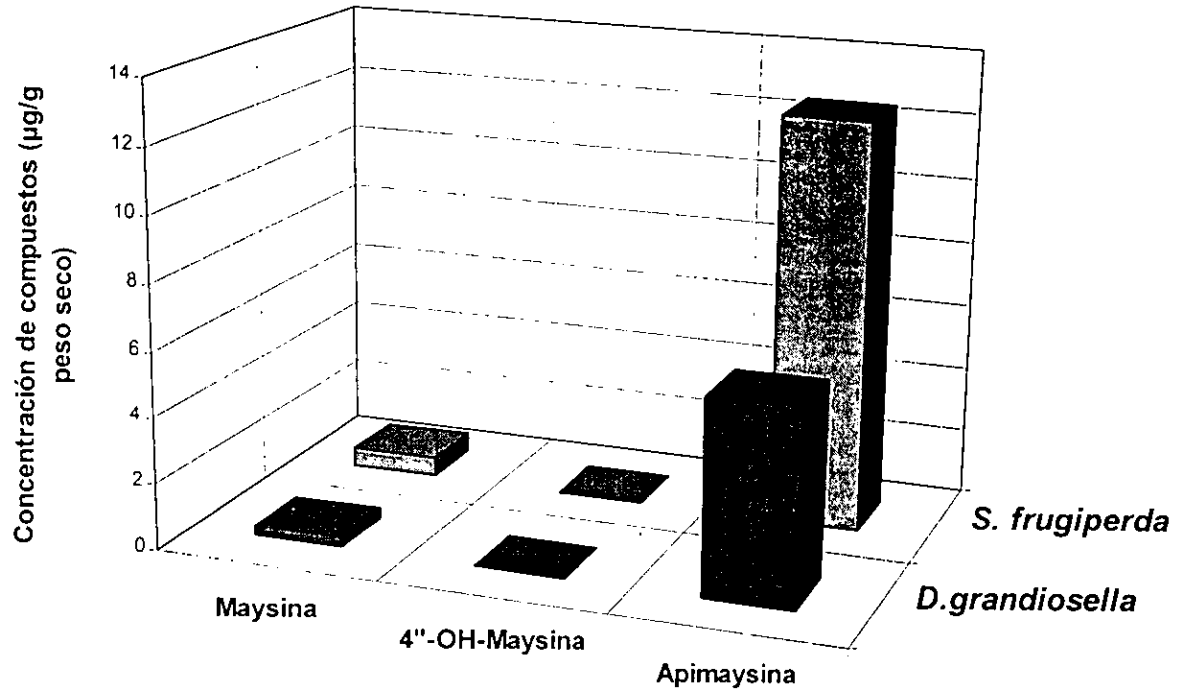
En CML 67 no se registró concentración en ninguna de las dos plagas, y en CML 131 la mayor concentración se detectó en *D. grandiosella* (gráficas 17 y 18).

Apimaysina:

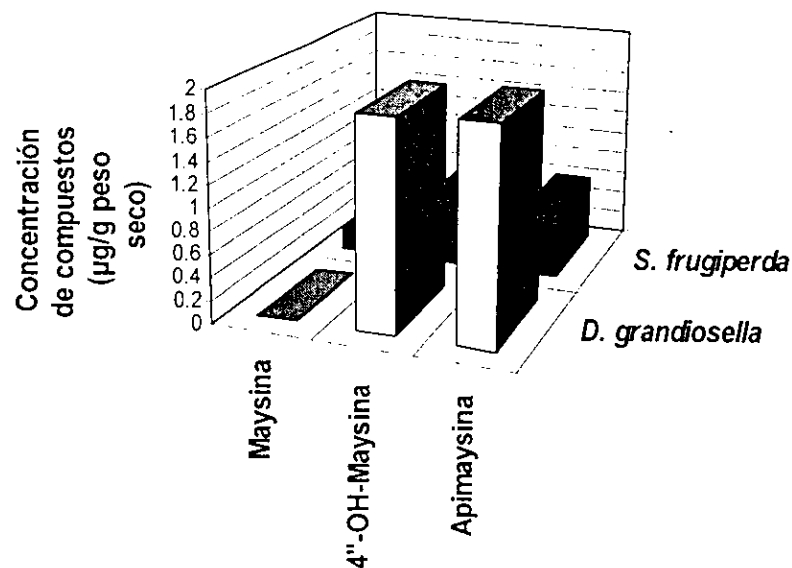
Se observó un incremento considerable en la línea CML 67, en las atacadas con *S. frugiperda*. Sin embargo para CML 131 disminuyó fuertemente con respecto a la línea anterior; en este caso la concentración de este compuesto fue mayor en las plantas atacadas con *D. grandiosella* (gráficas 17 y 18).

En conclusión podemos decir que, la actividad de los estigmas es atribuida al flavonoide Apimaysina, ya que es el que presenta mayor concentración que los otros dos compuestos, principalmente en los estigmas de la línea CML 67 atacados por *S. frugiperda*.

Gráfica 17.- Concentración de Maysina y compuestos análogos en estigmas de la línea de maíz CML 67, infestadas con las dos plagas



Gráfica 18.- Concentración de Maysina y compuestos análogos en estigmas de la línea de maíz CML131, infestadas con las dos plagas



CONCLUSIONES

1. La concentración de ácidos fenólicos (caféico, cumárico, ferúlico) y algunos compuestos de tipo flavonoide como maysina y compuestos análogos, fue mayor en las plantas de la línea CML 67 atacadas por las dos plagas. Lo que nos puede indicar que estos compuestos participan en la resistencia de las plantas frente a estos insectos.
2. Los resultados obtenidos en relación a las concentraciones de los diferentes ácidos en los diferentes tiempos de desarrollo evaluados, en las plantas de maíz indican un incremento en su producción en función al daño observado; es decir que la concentración de ácidos detectados está relacionada con el ataque producido en las hojas, bajo las condiciones en las que se realizó el trabajo.
3. Las concentraciones de ácido cumárico y ferúlico, incrementaron en mayor proporción en las hojas, y de acuerdo a la información bibliográfica consultada, estos compuestos son constituyentes importantes que conforman la pared celular.
4. La concentración de Apimaysina fue mayor con relación a sus análogos, siendo mayor en la línea CML 67; pudiendo ser este compuesto un factor de antibiosis en la resistencia.

De estas conclusiones se sugiere realizar los siguientes trabajos:

- Cuantificación de lignina
- Cuantificación de compuestos del tipo de los flavonoides en los estigmas de maíz, en diferentes ciclos de siembra.

BIBLIOGRAFÍA

- Argilés, H. J. M. y López, S. F. J. 1986. Las armas bioquímicas de los seres vivos. *Mundo científico*. **57**(6): 444-451.

- Anaya, L. A. L. 1998. Ecología Química. En prensa.

- Arnason, J. T., Gale, J., Conilh de Beyssac, B., Sen, A., Miller, S.S., Philogene, B. J. R., Lambert, J. D. H., Fulcher, R. G., Serratos, A. and Mihm, J. 1992. Role phenolics in resistance of maize grain to the stored grain insects, *Prostephanus truncatus* (Horn) and *Sitophilus zeamais* (Motsch). *J. Stored Prod. Res.* **28** (2) : 119-126.

- Bergvinson, D. 1993. Role phenolic acids in maize resistance to the European Corn Borer, *Ostrinia Nubialis* (Hübner). Tesis Doctoral de Filosofía en Biología, Universidad de Ottawa, 145p.

- Bergvinson, D., Hamilton, R. I. and Arnason J. T. 1995. Leaf Profile of Maize Resistance Factors to European Corn Borer, *Ostrinia nubialis*. *J. Chem. Ecol.* **21**(3):343-354.

- Bruneton, J. 1991. Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia. Acribia, S. A., Zaragoza, España. Pp. 127-129.

- Domínguez, X. A. 1985. Métodos de Investigación Fitoquímica. Limusa, México, D. F. pp. 45-66.

- Dowd, P. F. 1990. Responses of *Carpophilus hemipterus* larvae and adults to selected secondary metabolites of maize. *Entomol. Exp. Appl.* **54**:29-36.
- Edwards, P. J. and Wratten S. D. 1983. Wound induced defences in plants and their consequences for patterns of insect grazing. *J.Ecol.* **59**: 88-93.
- Farabee, M. J. 1997. Flowering plant reproduction: Fertilization and fruits. Springer Verlag, New York. pp. 35-39.
- Fulcher, R. G., O' Brien, T. P. and Lee, J. W. 1972. Studies on the aleurone layer. Conventional and Fluorescence microscopy of the cell wall with emphasis on phenol-carbohydrate complexes in wheat. *Aust. J. Biol. Sci.* **15**: 23-24.
- Goodwin, T. W. and Mercier, E. I. 1983. Introduction to plant Biochemistry. 2a. ed. Pergamon Press. Toronto, Canadá.
- Guang Yong, R. and Wiseman, B. R. 1994. Effect cuticular lipids from silks of selected corn genotypes on the development of corn earworm larvae. *J. Ent.* **29** (2): 239-246.
- Harborne, J. B. 1985. Introducción a la Bioquímica Ecológica. Alhambra, España, Madrid. pp. 297-337.

- Hösel, W. 1981. Glycosylation and glycosidases. In : Conn EE (De). The Biochemistry of plants, v. 7. Secondary plant products. Academic Press, New York, pp. 725-753.
- Jung, H. G. 1989. Forage lignins and their effects on fiber digestibility. *Agron. J.* **81**: 33-38.
- Lafitte, H. R. 1994. Identificación de Problemas en la Producción de Maíz Tropical. Guía de campo. México, D. F., CIMMYT. 122p.
- López, J. A. 1997. A short description of CIMMYT-Maize Program's Tlaltizapán Experiment Station. pp. 1-4.
- Loyola-Vargas, V. M. 1990. El Efecto del Stres en la Síntesis de Productos Secundarios. pp 1-24.
- Masefield, G. B. 1989. Guía de plantas comestibles, Omega, México, D. F.
- Maxwell, F. G. 1984. Mejoramiento de plantas resistentes a insectos. Editorial, Limusa, México, D. F. pp. 21-235.
- Morse, S., Wratten, S. D., Edwards, P. J. and Niemeyer, H. M. 1991. Changes in the hidroxamic acid content of maize leaves with time and after artificial damage, implications for insect attack. *Ann. Appl. Biol.* **119**: 239-249.

- Nishitani, K. and Nevins, D. J. 1990. Enzymic analysis of feruloylated arabinoxylans (feraxan) derived from *Zea mays* cell walls. *Plant Physiol.* **93**: 396-402.
- Ortega, C., A. 1987. Insectos Nocivos del Maíz: Una guía para su identificación en el campo. México, D. F. CIMMYT. 106 p.
- Robles, S., R. 1994. Producción de granos y forrajes. Limusa, México, D. F. pp. 9-152.
- Ruiz, O. M. 1986. Tratado de Botánica. Edit.E. C. L. A. L. Porrúa, México, D. F., pp. 583-585.
- Salisbury, F. B. 1994. Fisiología Vegetal. Grupo Editorial Iberoamericana, México, D. F. pp. 339-358.
- Serratos, A. J., Arnason, C., Nozzolillo, J. D. H., Lambert, B. J. R., Philogene, G., Fulcher, K., Davidson, L., Peacock, J., Atkinson and Morand, P. 1987. Factors contributing to resistance of exotic maize populations to maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *J. Chem. Ecol.* **13** (4): 751-762.
- Serratos, H., J. A. 1993. Análisis genético de algunas características bioquímicas y estructurales del grano de maíz (*Zea mays*) y su relación con la resistencia a la infestación de *Sitophilus zeamays* (Motsch). Tesis Doctoral en Biotecnología Vegetal, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, IPN; Unidad Irapuato. 88 p.

- Snook, H. E., Widstrom, N. W. and Gueldner, R. C. 1989. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic procedure for the determination of maysin in corn silks. *J. Chromatography* **477**: 439-447.
- Storey, C. L. 1988. Effect and control of insects affecting quality in corn. En "Corn and Corn improvement" Sprague, D. F. y Dudley, J. M: (Eds.). pp. 185-197. Crop Science Society of America. Madison, Wisconsin, U. S. A .
- Swain, T. 1979. Tannins and lignins. In: G.A. Rosenthal and D. H. Janzen (Eds.) *Herbivores: Their interaction with secondary plant metabolites*, Academic Press, New York. pp. 657-682.
- Tipping , P. W., Mikolajczak, K. L., Rodríguez, J. G., Poneleit, C. G. and Legg, D. E. 1987. Effects of whole corn Kernels and extracts behavior of maize weevill (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.* **80** (5): 1010-1013.
- Wiseman, B. R., Snook, M. E., Wilson, R. L. and Isenhour, D. J. 1992. Allelochemical content of selected popcorn silks: Effects on growth of corn earworm larvae (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* **85**(6): 2500-2504.
- Yamamoto, E. and Towers, G. H. N. 1985. Cell wall bound ferulic acid in barley seedling during development and its photoisomerization. *J. Plant Physiol.* **117**:441-449.