

Tamizaje fitoquímico de órganos y tejidos de *Cycas circinalis* L.

Esperanza Peña, Erma Grillo, Margarita Ruiz, Jardín Botánico Nacional, Universidad de La Habana.

RESUMEN

Se realizó un tamizaje fitoquímico a hojas mayores y menores de dos años, semillas y explantes y tejido neoforado de macrogametofitos de *Cycas circinalis* L.. Se encontró una homogeneidad total en la producción de compuestos secundarios del metabolismo. Se producen grupos amino libres, flavonoides y triterpenos y/o esteroides y no se encontraron glicósidos cardiotónicos, leucoantocianidinas, alcaloides, fenoles, taninos y saponinas. Se discuten los resultados.

ABSTRACT

Phytochemical separation from leaves older and younger than two year, seeds and explants and neoforated tissue of megagametophytes of *Cycas circinalis* L. was done. Total homogeneity in the production of secondary products was found. Free amino group, flavonoids and triterpenes and/or steroids are produced while cardiotonic glycosides, leucoanthocyanidins, alkaloids, phenols, tannins and saponins are absent. Results are discussed.

INTRODUCCIÓN

Las plantas superiores constituyen un rico recurso de sustancias de interés económico, medicinal e industrial. Entre estas, los compuestos secundarios del metabolismo se han encontrado restringidos a un número limitado de especies y en ocasiones no pueden ser útiles al hombre por ser degradados por la propia planta.

Resulta de interés permanente el incremento de conocimientos en la composición química de especies vegetales aspecto insuficientemente investigado hasta el presente y cuyo primer paso es el tamizaje fitoquímico en órganos y tejidos de la planta.

Actualmente la obtención de me-

tabolitos secundarios "in vitro" ofrece una gran ventaja porque los compuestos pueden producirse en poco tiempo y con un control de las condiciones ambientales. La regulación del proceso puede provocar una producción máxima de estos, y además las células pueden ser genéticamente modificadas para acumular productos finales del metabolismo o intermediarios específicos (Kurz and Constabel, 1979).

En la familia Cycadaceae se han reportado raras veces estudios relacionados con el contenido de metabolitos secundarios (Alemán et al., 1965; Fegmauer, 1962; Swain and Farborne, 1973; Peña, Grillo y Ruiz, 1984).

Cycas circinalis L. especie de esta familia está siendo estudiada desde distintos puntos de vista, que abarcan la obtención y propa-

gación de los tejidos del macrogametofito "in vitro" y algunas características químicas y fisiológicas relacionadas con el sistema peroxidasa en esta especie (Norstog and Rhamstine, 1967; Peña, Grillo y Pérez, 1983; Peña, Grillo y Pérez, 1985).

Por su valor botánico, sus características primitivas, su amplia distribución, su reproducción vegetativa y el hecho de encontrarse dentro de una familia muy discutida por los especialistas desde el punto de vista taxonómico, resulta de interés cualquier información que contribuya a elevar el conocimiento de esta especie, razón por la cual los resultados alcanzados en este trabajo con el tamizaje fitoquímico de diferentes órganos y tejidos complementan los estudios actuales en esta especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales utilizados:

Los órganos y tejidos de *Cycas circinalis* L. utilizados en el presente estudio procedían de plantas cultivadas en el Jardín Botánico Nacional.

Se utilizaron hojas mayores y menores de dos años, semillas completas y cultivos "in vitro" de macrogametofitos para la evaluación de los distintos tipos de metabo-

litos secundarios.

Preparación de las muestras:

Las hojas muestreadas (raquis y pinnas) se dejaron secar a temperatura ambiente. Una vez secas, se tritularon bien y se maceraron en etanol durante siete días para la realización de los análisis. Se utilizaron 5 gramos de material en todos los casos.

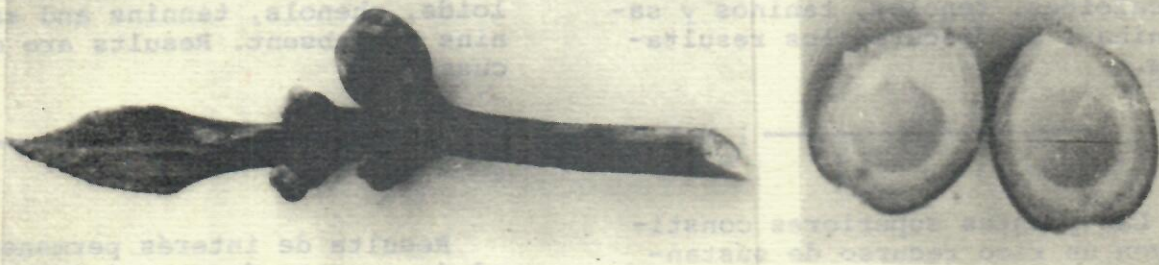


Fig. 1. Caracteres de la semilla de *Cycas circinalis* L.:

A: Esporofilo en que se está desarrollando 1 sola semilla;

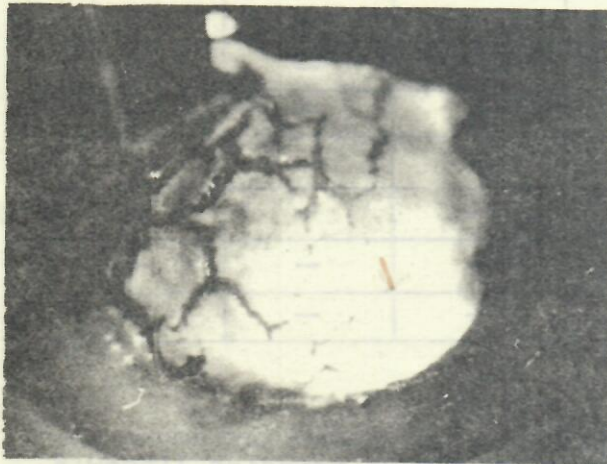
B: semilla cortada longitudinalmente en la que se observan

los tegumentos y la cavidad de donde se extrajo el

gametofito para su cultivo in vitro.



Fig. 2. Macrogametofito de *Cycas circinalis* L.
A. Aspecto del explante recién sembrado.



B. Comienzo de la formación de tejido del macrogametofito

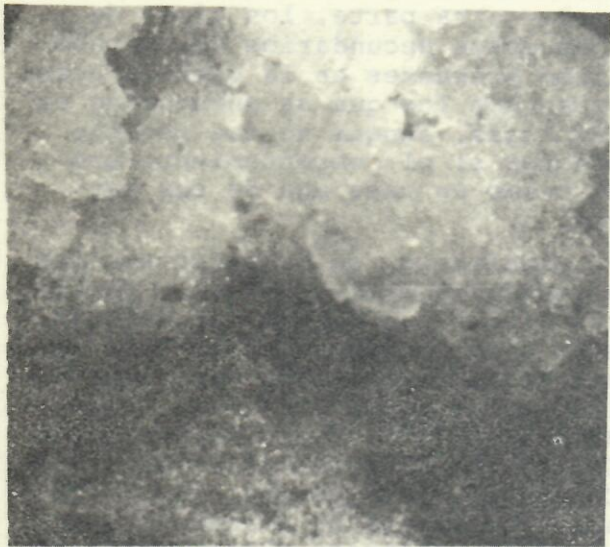


Fig. 3. Aspecto del explante y del tejido neoformado a partir de éste antes de su maceración para la realización del tamizaje fitoquímico.

Las semillas se colectaron maduras y se dejaron secar en estufa a 60°C. Una vez secas se trituraron mediante la utilización de un molino y la muestra obtenida se maceró siete días para la realización de los análisis.

A partir de semillas maduras previamente lavadas con agua corriente se extrajeron los macrogametofitos que presentan una consistencia dura, color blanco y de diámetros aproximados de 3,5 cm según el eje mayor y 2,5 cm según el eje menor. (figura 1). El material se esterilizó superficialmente con hipoclorito de sodio 0,4%, se seccionó transversalmente en tres porciones y a su vez cada una longitudinalmente en dos. Las porciones obtenidas se sembraron en el medio XII utilizado por Peña y Grillo (1982) para la proliferación de tejidos de macrogametofito de *Mycrocycas* (figura 2), en el cual se mantuvieron creciendo tres meses a temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$ y luz blanca poco intensa. Los cultivos se seccionaron nuevamente, manteniendo la porción inicial del explante y se resembraron en el referido medio y condiciones de luz y temperatura.

Después de cuatro meses de crecimiento (figura 3) el tejido neoformado se separó del explante inicial en cada cultivo y se colectaron en frascos con etanol la totalidad de los explantes y la totalidad de los tejidos neoformados separadamente. Los materiales se maceraron en etanol durante siete días para realizar los análisis.

Métodos empleados:

Con las distintas fuentes de materiales descritos se procedió en todos los casos a realizar una separación de fracciones y el reconocimiento de los distintos metabolitos secundarios presentes. El método de fraccionamiento y las técnicas para el reconocimiento de grupos amino libres, fenoles, taninos, triterpenos y/o esteroides flavonoides, leucoantocianidinas, glicósidos cardiotónicos, saponinas y alcaloides han sido referidos con anterioridad (Peña, Grillo y Ruiz, 1984).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en cuanto a la comparación del contenido de los distintos tipos de compuestos secundarios del metabolismo en distintos órganos y tejidos de *Cycas circinalis* L. se presentan en la Tabla 1.

Se observa que las hojas, las semillas, los explantes de macrogametofitos después de siete meses en cultivo y los callos producidos a partir de estos últimos contienen grupos amino libre, flavonoides y triterpenos y/o este-

TABLA-1

TIPO DE METABOLITO	ORGANO DE LA PLANTA	HOJAS		SEMILLAS	MACROGAMETOFITO DESPUES DE 7 MESES DE CULTIVO	
		Mayores de 2 años	Menores de 2 años		Explante	Tejido Neoformado
GRUPOS AMINO LIBRES		+	+	+	+	+
FLAVONOIDES		+	+	+	+	+
TRITERPENOS Y/O ESTEROIDES		+	+	+	+	+
GLICOSIDOS CARDIOTONICOS		-	-	-	-	-
LEUCOANTOCIANIDINAS		-	-	-	-	-
ALCALOIDES		-	-	-	-	-
FENOLES		-	-	-	-	-
TANINOS		-	-	-	-	-
SAPONINAS		-	-	-	-	-

roides mientras que no se detectaron glicósidos cardiotónicos, leucoantocianidinas, alcaloides, fenoles, y saponinas.

Resulta interesante que el comportamiento de los distintos órganos y tejidos estudiados sea cualitativamente igual en cuanto al contenido de los tipos de metabolitos secundarios analizados.

El hecho de haber tomado hojas mayores y menores de dos años pone de manifiesto que no existen variaciones en el contenido de tipos de metabolitos secundarios asociados a la edad de la hoja. Es de resaltar que aunque las hojas utilizadas en cada grupo fueron muestreadas al azar, en todos los casos se trataba de hojas verdes y en buenas condiciones fitosanitarias. Es posible que en las etapas finales del desarrollo se produzcan algunos tipos de metabolitos como las leucoantocianidinas responsables parcialmente del co-

lor olivo que toman las hojas maduras de muchas especies (Goodwin, 1965) lo cual no caracterizó al material utilizado en este trabajo.

Por otra parte, los tipos de compuestos secundarios del metabolismo presentes en la semilla coinciden con los que se encuentran en las hojas, aunque no fue posible conocer si el comportamiento era el mismo en cada una de sus partes.

Finalmente, se ha reportado que el medio de cultivo y otros factores pueden introducir variaciones a la acumulación de compuestos secundarios en cultivos "in vitro" (Tabata et al., 1971; Nagel und Reinhard, 1975; Barz, Reinhard and Zenk, 1977; Dougall, 1979; Kurz and Constabel, 1979; Staba, 1980). En nuestro trabajo se evidencia que el medio utilizado y las condiciones de luz y temperatura no introdujeron variaciones en los tipos de compuestos acumulados respecto

a lo que se produce en otros órganos como las hojas y las semillas. Es interesante que el explante original después de siete meses en cultivo, se mantuviera vivo y presentara los mismos metabolitos que la semilla. Aunque no puede decirse que el contenido de las diferentes partes de la semilla sea el mismo, es probable que los tipos de compuestos secundarios del explante de siete meses en cultivo sea igual al del gametofito, lo cual queda por demostrar. Lo que si

resulta demostrado es que el medio de cultivo y las condiciones de luz y temperatura no modifican el contenido de los tipos de compuestos secundarios en el tejido neoformado a partir del explante.

Resultaría interesante trabajar en el comportamiento de otros órganos de la planta como los esporofilos, las raíces y el tallo así como en la distribución de estos tipos de compuestos en las diferentes partes de la semilla.

BIBLIOGRAFÍA

- Alemán, E.
Phytochemische unter suchungen an Pflanzen der Kubanischen Flora. Die Kulturpflanze. Berlin Vol. XIX pp. 359-425, 1972.
- Barz, M.; E. Reinhard and M.H. Zenk
Plant tissue culture and its Biotechnological Application. I: Cell cultures and secondary products. Springer Verlag, Berlin, pp. 3-16, 1977.
- Dougall, K.D.
Plant cell and tissue culture: principle and applications. Sharp. W.R., P.O. Larson, E.F. Paddock and J. Raghaven eds, Ohio State University Press, Columbus, chap. 33, pp. 727-740, 1979.
- Goodwin, T.W.
Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. Academic Press, London, chap. 8, pp. 241-242, 1965.
- Hegnauer, R.
Chemotaxonomie der pflanzen. Birkhauser Verlag Basei und stuttgart. Vol. I, pp. 199-321, 1962.
- Kurz, W.C.W. and F. Constabel
Advances in applied microbiology. Academic Press, Vol. 25, pp. 209-237, 1979.
- Nagel, M.E. und E. Reinhard
Das ätherische Öl der calluskulturen von *Ruta graveolens*. II. Physiologie Zur Bildung des ätherischen öles. Planta. Med. Vol. 27, pp. 264-274, 1975.
- Norstog, K. and E. Rhamstine
Isolation and culture of haploid and diploid *Cycas* tissues. *Phytomorphology*, Vol. 17 pp. 334-338, 1967.
- Peña, E. y E. Grillo
Proliferación de *Microcycas calocoma* (Miq.) A.DC. in vitro *Revista Jardín Botánico Nacional*, Vol. III, No. 2, pp. 177-195, 1982.
- Peña, E.; E. Grillo y D. Pérez
Peroxidasas en *Cycas circinalis* L.: I. Estudios en la semilla. *Revista Jardín Botánico Nacional*. Vol. IV, No. 3, pp. 117-127, 1983.
- Peña, E.; E. Grillo y M. Ruiz.
Metabolitos secundarios en Cycadaceae: I. Estudio de los tipos de metabolitos secundarios en especies de los géneros *Microcycas*, *Dioon*, *Cycas*, *Zamia* y *Ceratozamia*. *Revista del Jardín Botánico Nacional*. Vol. V., No. 3, 1984 (en prensa).
- Staba, E.J.
Plant tissue culture as a source of biochemicals *CRS Press, Inc.*, pp. 3-15 y 237-257, 1980.
- Swain, T. and J.B. Harborne
Phytochemistry, Pergamon Press Vol. 12, No. 2, pp. 371-373, 1973.
- Tabata, M.; F. Yamamoto, N. Hiramoto, Y. Marumoto and M. Konoshima.
Regulation of nicotine production in tobacco tissue culture by plant growth regulators. *Phytochemistry*. Vol. 10. pp. 723-729, 1971.

Recibido: 15 de abril de 1985

El Jardín Botánico de la Universidad Friedrich-Schiller Jena, (RDA)

Helga Dietrich, Universidad Friedrich-Schiller Jena-RDA.

El Jardín Botánico de Jena celebra en el año 1986 el 400 aniversario de su existencia. Fue fundado en 1586 como "Hortus Medicus"; así que pertenece al grupo de las instituciones de su tipo más antiguas del mundo.

Situado en el centro de Jena, la conocida ciudad de la óptica, tiene una superficie de aproximadamente 4,5 ha. Otra parte del Jardín de una 1,7 ha se encuentra en la carretera a Weimar y sirve para la producción de plantas ornamentales y es la sede de su proyecto de investigación "Cultivo de nuevas plantas ornamentales". A pesar del pequeño tamaño del Jardín se cultivan en él unas 12 000 especies diferentes.

En correspondencia con su situación en Europa Central y las condiciones climáticas que de ello se desprenden (temperatura promedio anual 8,4° - 8,6°C) con meses fríos y épocas del año con nieve y heladas, se cultivan plantas tanto al aire libre como en invernaderos. Estos invernaderos tienen calefacción desde septiembre hasta mayo.

Las plantas al aire libre están ordenadas desde el punto de vista ecológico, fitogeográfico, sistemático y estético. Así tenemos que comprender el *Arboretum* (árboles y arbustos); el *Alpino*, (plantas de las zonas montañosas y rocosas de ambos hemisferios); una zona para las plantas de los bosques, estepas, pantanos, páramos y lagunas; una zona para las plantas útiles y maderables; la zona sistemática y por último una zona donde se demuestran algunas singularidades morfológicas y biológicas. En el *Arboretum* se encuentran sembrados cerca de 900 especies de hojas anchas y coníferas de territorio con clima templado caliente y frío. Entre las curiosidades dendrológicas del Jardín Botánico de Jena tenemos algunos enormes ejemplares de *Ginkgo biloba* (uno de ellos de cerca de 180 años), *Metasequoia glyptostroboides* (conífera siempreverde de China), una encina gigantesca (*Quercus frainetto*) una encina rara (*Quercus pseudoturneri*), *Nothofagus antartica*, *Stewartia monadelphica* y en correspondencia con las investigaciones del actual director del Jardín Botánico, Prof. Dr. G. Klotz, una

muy rica colección de especies de *Cotoneaster*.

Los invernaderos se reconstruyeron y ampliaron entre los años 1980-1983. Un edificio de entrada con vitrinas de exposición une un complejo de cinco invernaderos que rodean un jardín interior al aire libre. En ese patio se observan Euforbiáceas africanas, otras suculentas y plantas anuales de verano también de África, esencialmente plantas que resisten el frío (entre otros *Eucalyptus*, *Cedrus libani*, palmas) y una piscina calentable para el cultivo de *Victoria* así como otros arbustos ornamentales.

En el edificio de entrada se montó una gran vitrina en la que se colocan a través del año orquídeas florecidas (principalmente de los géneros *Phalaenopsis*, *Paphiopedilum*, *Cattleya*, *Cymbidium* y *Oncidium*) que se cultivan en invernaderos especiales. Esta vitrina es particularmente atractiva para los 100 000 visitantes anuales.

A lo anterior se une un invernadero para cactáceas y suculentas que se encuentra dividido en suculentas americanas y africanas ordenadas desde el punto de vista sistemático y fitogeográfico. Una gran extensión está dedicada a las especies cubanas; en una parte se representan las terrazas costeras entre Guantánamo y Maisí. Entre los ejemplares raros que se cultivan aquí tenemos *Welwitschia mirabilis*, *Encephalartos horridus*, *Microcyas calocoma*, *Bombacopsis cubensis*, varias especies de *Pachypodium* y algunas *Didieraceae*.

El recorrido conduce hasta el invernadero de las plantas de hojas duras y laurifolias que forman los bosques siempreverdes de la zona de transición entre las zonas tropicales y subtropicales cuyas características quedan precisamente demostradas por la forma y consistencia de sus típicas hojas. En tres lugares aislados se muestran elementos florísticos del hemisferio sur (especialmente Australia y Nueva Zelandia), del Mediterráneo y de Asia oriental (China y Japón). Para el año próximo está planificada una gran vitrina de insectívoras.

En el invernadero de las palmas

(prácticamente un "invernadero" tropical) hay cerca de 50 palmas diferentes entre ellas algunas muy raras de observar en Europa así como muchas plantas tropicales útiles y ornamentales. El visitante debe recibir la impresión de un bosque pantropical siempreverde con su exuberante vegetación y su riqueza en especies.

Una parte de esta colección proviene de un transporte de plantas organizado en 1982 entre Cuba y la RDA. Por agua y por tierra: por barco a través del Atlántico, y con camiones especiales desde el Báltico hasta Jena, sin pérdida alguna llegaron todos los ejemplares hasta el Jardín Botánico.

Agradecemos aquí, sinceramente de todo corazón, a nuestra institución homóloga en Cuba, el Jardín Botánico Nacional de la Universidad de La Habana, bajo la conducción de su directora Dra. Ángela Leiva por poner a nuestra disposición ese material vegetal y todo el apoyo brindado en los preparativos y ejecución del transporte.

Actualmente se cultivan en el Jardín Botánico de Jena 521 grupos de plantas cubanas cuyo origen es conocido, las mismas fueron colectadas durante las numerosas expediciones llevadas a cabo entre los años 1975-1984 en diferentes localidades de Cuba o provienen de semillas cultivadas en Jena, o en el Jardín Botánico Nacional de Cuba.

Las dimensiones del invernadero de las palmas son: 38 metros de largo, 18 m de ancho y 15,5 m de altura que garantizan el desarrollo óptimo de todos los ejemplares. En el año 1984 comenzó la *Roystonea regia*, que tiene una altura de aproximadamente 10 m, a formar su primer penacho y florecieron todas las especies de *Heliconia* y *Bauhinia*.

Unido al invernadero de las palmas tenemos otro invernadero para plantas acuáticas y de los pantanos de las zonas tropicales y subtropicales que crecen tanto en los acuarios como en piscinas (en forma ordenada tenemos Algas, briofitas acuáticas, Hydropteridae, mono y dicotiledóneas).

Este gran invernadero recibe el nombre de "Casa de la Victoria" por la presencia de *Victoria amazonica* y *V. cruziana*. Aquí tenemos junto a

las plantas acuáticas tropicales (como *Nelumbo*, *Nymphaea*) representantes de los manglares y: las *Araceae*. En una de sus paredes encontramos un árbol con epífitas: *Psilotum*, *Nepenthes*, muchas orquídeas, Bromeliáceas, así como helechos que llaman mucho la atención de los visitantes.

En el marco de la indispensable especialización de los Jardines Botánicos, el de Jena desde el año 1965 se ha orientado hacia el cultivo de plantas petrofitas, orquídeas y plantas tropicales acuáticas y de lugares pantanosos. Conicionado por el proyecto de investigación sobre la Flora de Cuba que se realiza desde hace 10 años tenemos como cuarto punto importante el ensayo del cultivo de plantas cubanas que se añade a las anteriores.

Como institución científica, como lugar de investigación y de aprendizaje, el Jardín Botánico de Jena sirve, en primer lugar, de centro de educación y formación para los estudiantes de Biología y estudios de postgrado y perfeccionamiento a los profesores de Biología y a los escolares. Constantemente se suministran los materiales vegetales necesarios para las conferencias en la Educación Superior.

Pero crece también el significado del Jardín como centro de enseñanza para el público, como centro de transmisión de una visión dialéctica fundamentada del mundo.

A esto podemos añadir, que cada día una mayor cantidad de personas utilizan su tiempo libre en una ocupación que exige esfuerzos y de ahí que se interesen cada vez más por las plantas ornamentales.

Los trabajadores del Jardín Botánico atienden grupos especializados en orquídeas, cactus y suculentas, plantas acuáticas y plantas arbustivas.

También se consulta a los trabajadores del Jardín Botánico sobre la configuración y siembra o reconstrucción de áreas verdes tanto en Jena como en otras ciudades y comunidades.

Además, mensualmente se responden tanto oral como por escrito preguntas sobre jardinería y jardines botánicos y se dan conferencias tanto en Jena como en otras ciudades. Se tiene en cuenta también el interés por visitas dirigidas más amplias al Jardín. Tres jardineros están finalmente encargados del cuidado y mantenimiento de más de 30 áreas verdes en edificios pertenecientes a la Universidad.

Otro aspecto es la participación en las actividades oficiales de la Universidad Friedrich-Schiller con flores, plantas ornamentales y decoraciones. Así es la gama de actividades científicas y de jardinería que requiere del trabajo intenso de los 35 trabajadores de nuestra institución.

Recibido: 2 de mayo de 1985.