

**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE
INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO
INTEGRAL REGIONAL
UNIDAD DURANGO**

**VARIABILIDAD DE FENOLES FOLIARES DE
*Agave duranguensis***

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN
GESTIÓN AMBIENTAL**

P R E S E N T A :

MARGARITA ARACELI ORTEGA CHÁVEZ

DIRECTOR: NORMA ALMARAZ ABARCA

COORDIRECTOR: IRMA LORENA LÓPEZ

ENRÍQUEZ

DURANGO, DGO. DICIEMBRE 2009





INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS

México, D.F. a 10 de junio del 2009

El Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR-IPN en su sesión ordinaria No. 5 celebrada el día 12 del mes de mayo conoció la solicitud presentada por el(la) alumno(a):

ORTEGA

Apellido paterno

CHÁVEZ

Apellido materno

MARGARITA ARACELI

Nombre (s)

Con registro: B 0 7 1 2 5 1

Aspirante de: Maestría en Ciencias en Gestión Ambiental

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:
VARIABILIDAD DE FENOLES FOLIARES DE *Agave duranguensis*

De manera general el tema abarcará los siguientes aspectos:

La determinación de la composición fenólica foliar de *Agave duranguensis*.

La determinación de la variación intra e interpoblacional de los perfiles fenólicos foliares de *Agave duranguensis*.

2.- Se designa como Director de Tesis al C. Profesor:
Dra. Norma Almaraz Abarca, M. en C. Irma Lorena López Enríquez

3.- El trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:
CIIDIR IPN UNIDAD DURANGO

que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente hasta la aceptación de la tesis por la Comisión Revisora correspondiente:

El Director de Tesis

Dra. Norma Almaraz Abarca

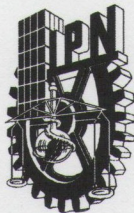
El Aspirante

Margarita Araceli Ortega Chavez

M. en C. Irma Lorena López Enríquez

El Presidente del Colegio

Dr. José B. Rodríguez
CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD DURANGO
I.P.N.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-14

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Durango, Dgo. siendo las 15:00 horas del día 9 del mes de diciembre del 2009 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR IPN Durango para examinar la tesis de titulada:

Variabilidad de fenoles foliares de *Agave duranguensis*

Presentada por el alumno:

ORTEGA

Apellido paterno

CHÁVEZ

Apellido materno

MARGARITA ARACELI

Nombre(s)

Con registro:

B	0	7	1	2	5	1
---	---	---	---	---	---	---

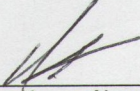
aspirante de:

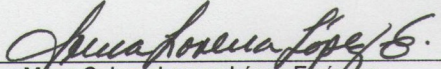
Maestría en Ciencias en Gestión Ambiental

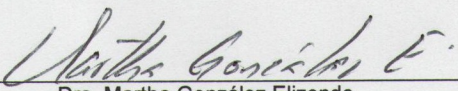
Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

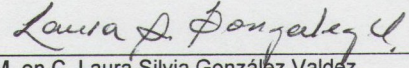
LA COMISIÓN REVISORA

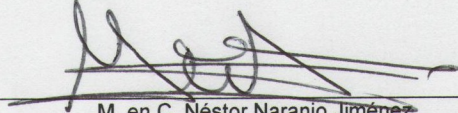
Director de tesis


Dra. Norma Almaraz Abarca


M. en C. Irma Lorena López Enríquez

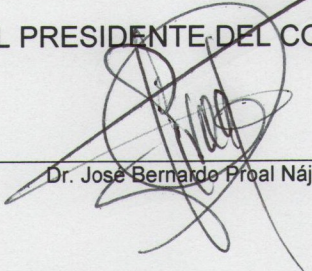

Dra. Martha González Elizondo


M. en C. Laura Silvia González Valdéz


M. en C. Néstor Naranjo Jiménez

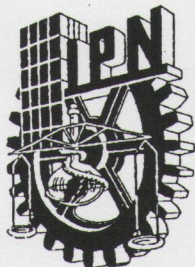

M. en C. Eli Amanda Delgado Alvarado

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO


Dr. José Bernardo Proal Nájera


CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL

C.I.I.D.I.R.
CIUDAD DURANGO

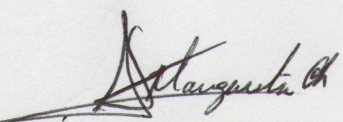


INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de **DURANGO, DGO.**, el día **9** del mes **DICIEMBRE** del año **2009**, el (la) que suscribe **ORTEGA CHÁVEZ MARGARITA ARACELI** alumno (a) del Programa de **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN GESTIÓN AMBIENTAL** con número de registro **B071251**, adscrito a **CIIDIR IPN UNIDAD DURANGO**, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la **DRA. NORMA ALMARAZ ABARCA** y de la **M. EN C. IRMA LORENA LÓPEZ ENRÍQUEZ** y cede los derechos del trabajo intitulado **VARIABILIDAD DE FENOLES FOLIARES DE *Agave duranguensis***, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección margoortega@yahoo.com.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


ORTEGA CHÁVEZ MARGARITA ARACELI
Nombre y firma

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZO EN EL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGIA DEL CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACION PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL, UNIDAD DURANGO, CON LA DIRECCION, DE LA DOCTORA NORMA ALMARAZ ABARCA, Y LA MAESTRA EN CIENCIAS IRMA LORENA LÓPEZ ENRÍQUEZ. FUE DERIVADO DEL PROYECTO “EVALUACION DE LA VARIABILIDAD GENETICA DEL COMPLEJO *Agave durangensis* EN EL ESTADO DE DURANGO” (CLAVE SIP 20090709), EL CUAL TUVO UN APOYO DEL CONACYT (CB-2006-1-60664).

INDICE

	Pág.
INDICE DE FIGURAS _____	i
INDICE DE TABLAS _____	iv
RESUMEN _____	v
ABSTRACT _____	vi
I. INTRODUCCIÓN _____	1
II. ANTECEDENTES _____	3
2.1 La familia Agavacea _____	3
2.2 El género Agave _____	3
2.3 Aspectos botánicos de Agave durangensis _____	4
2.4 Aspectos etnobotánicos del género Agave _____	7
2.5 Compuestos fenólicos _____	8
2.5.1 Los flavonoides _____	9
2.5.2 Los fenoles como marcadores taxonómicos _____	14
2.6 Estudios quimiotaxonómicos del género Agave _____	15
III. JUSTIFICACIÓN _____	17
IV. OBJETIVO _____	18
V. MATERIALES Y MÉTODOS _____	19
5.1 Descripción del área de estudio _____	19
5.2 Colecta del material vegetal _____	20
5.3 Preparación de extractos _____	21
5.4 Obtención de los perfiles fenólicos foliares por HPLC/DAD _____	21
5.5 Análisis de datos _____	22
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN _____	23

6.1 Composición fenólica foliar_____	23
6.2 Implicaciones taxonómicas de la composición fenólica foliar_____	37
VII. CONCLUSIONES_____	45
VIII. RECOMENDACIONES_____	46
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS_____	47

INDICE DE FIGURAS

Figura	Nombre	Pág.
Figura 1.-	<i>Agave durangensis</i> Mezquital.	5
Figura 2.-	<i>Agave durangensis</i> Sierra del Registro.	5
Figura 3.-	<i>Agave durangensis</i> Sierra del Registro.	5
Figura 4.-	<i>Agave durangensis</i> Mezquital.	6
Figura 5.-	<i>Agave durangensis</i> Mezquital.	6
Figura 6.-	Los compuestos fenólicos se biosintetizan en las plantas por rutas biosintéticas diferentes. La mayoría de los compuestos fenólicos derivan de la fenilalanina, un producto de la ruta del ácido shiquímico.	10
Figura 7.-	Ruta de la biosíntesis de fenoles a partir de la fenilalanina. La formación de la mayoría de los fenoles, incluidos los fenilpropanoides simples, cumarinas, derivados del ácido benzoico, ligninas, antiocianinas, isoflavonoides, taninos condensados y otros flavonoides, se inicia con el aminoácido fenilalanina (Tomado de Taiz y Zeiger, 2006).	11
Figura 8.-	Estructura básica de los flavonoides.	12
Figura 9.-	Estructura básica de las flavonas (izquierda) y los flavonoles (derecha).	12
Figura 10.-	Estructuras básicas de a: flavanonas, b: dihidroflavonoles, c: dihidrochalconas, d: flavanos y e: flavanoles.	13
Figura 11.-	Estructura básica de las antocianinas.	14
Figura 12.-	Estructura básica de los isoflavonoides.	14
Figura 13.-	Sitios de colecta: Sierra de Registro, Durango (1), El Mezquital (2) y Cuencamé (3).	20
Figura 14.-	Espectros UV de los flavonoides detectados en el tejido foliar de <i>Agave durangensis</i> y <i>Agave asperrima</i> en Durango, México.	24
Figura 14.-	(Continuación) Espectros UV de los flavonoides detectados en el tejido foliar de <i>Agave durangensis</i> y <i>Agave asperrima</i> en Durango, México.	25

Figura 14.-	(Continuación) Espectros UV de los flavonoides detectados en el tejido foliar de <i>Agave durangensis</i> y <i>Agave asperrima</i> en Durango, México.	26
Figura 14.-	(Continuación) Espectros UV de los flavonoides detectados en el tejido foliar de <i>Agave durangensis</i> y <i>Agave asperrima</i> en Durango, México.	27
Figura 15.-	Cromatogramas de los perfiles fenólicos foliares de algunos individuos de <i>Agave durangensis</i> de la localidad e Sierra de Registro, obtenidos por HPLC/DAD.	28
Figura 16.-	Cromatogramas de los perfiles fenólicos foliares de algunos individuos de <i>Agave durangensis</i> de la localidad de El Mezquital, obtenidos por HPLC/DAD.	30
Figura 17.-	Cromatogramas de los perfiles fenólicos foliares de algunos individuos de <i>Agave asperrima</i> de Cuencamé, obtenidos por HPLC/DAD.	32
Figura 17.-	(Continuación) Cromatogramas de los perfiles fenólicos foliares de algunos individuos de <i>Agave asperrima</i> de Cuencamé, obtenidos por HPLC/DAD.	33
Figura 18.-	Individuo 203 de la población de Sierra de Registro y muestra de hoja.	35
Figura 19.-	Individuo 225 de la población de Sierra de Registro y muestra de hoja.	35
Figura 20.-	Individuo 228 de la población de Sierra de Registro y muestra de hoja.	36
Figura 21.-	Individuo 523 de la población de El Mezquital y muestra de hoja.	36
Figura 22.-	Resultados de la comparación de los perfiles fenólicos foliares de los individuos de <i>Agave durangensis</i> de la Sierra de Registro (serie 200), de El Mezquital (serie 500) y de <i>Agave asperrima</i> de Cuencamé (serie 300), por medio del análisis de componentes principales.	41
Figura 23.-	Resultados de la comparación de los perfiles fenólicos foliares de los individuos de <i>Agave durangensis</i> de la Sierra de Registro (serie 200) y de <i>Agave asperrima</i> de Cuencamé (serie 300), por medio del análisis de componentes principales.	42
Figura 24.-	Resultados de la comparación de los perfiles fenólicos	43

foliares de los individuos de *Agave durangensis* de El Mezquital (serie 500) y de *Agave aspérrima* de Cuencamé (serie 300), por medio del análisis de componentes principales.

Figura 25.- Resultados de la comparación de los perfiles fenólicos foliares de los individuos de *Agave durangensis* de Sierra de Registro (serie 200) y de El Mezquital (serie 500), por medio del análisis de componentes principales. 44

INDICE DE TABLAS

Figura	Nombre	Pág.
Tabla 1.-	Distribución individual de los flavonoides foliares de <i>Agave durangensis</i> de la Sierra de Registro.	29
Tabla 2.-	Distribución individual de los flavonoides foliares de <i>Agave durangensis</i> de la localidad de Mezquital.	31
Tabla 3.-	Distribución individual de los flavonoides foliares de <i>Agave asperrima</i>	34
Tabla 4 .-	Perfiles tipo de <i>Agave durangensis</i> de Sierra de Registro, presunto <i>Agave durangensis</i> de Mezquital, y <i>Agave asperrima</i> .	40

RESUMEN

Se realizó la caracterización de la composición de fenoles de tejido foliar de 23 individuos de *Agave durangensis* de la Sierra de Registro; de 23 individuos, asumidos con base morfológica como *Agave durangensis*, de una población de El Mezquital; y con fines comparativos, un número igual de individuos de *Agave aspérria* del municipio de Cuencamé, localidades todas del Estado de Durango. La determinación de la composición fenólica se realizó mediante la técnica de cromatografía líquida de alta presión con detector de arreglo de diodos (HPLC/DAD), usando un método en gradiente. Una matriz binaria de presencia/ausencia se elaboró con los compuestos fenólicos resueltos en los cromatogramas respectivos, la cual fue sometida a un análisis de componentes principales (CP) para determinar la variabilidad intraespecífica e interespecífica y el valor de los perfiles fenólicos para delimitar y discriminar entre especies. Registros de caracteres morfológicos de cada uno de los individuos de Sierra de Registro y de El Mezquital también fueron realizados. Los resultados mostraron el dominio de un solo tipo de flavonoide, los flavonoles, en todos los 69 individuos estudiados, particularmente de canferol, el cual fue encontrado como 22 diferentes derivados glicósidos. Variabilidad intraespecífica en los perfiles fenólicos foliares fue detectada en los tres grupos evaluados, la mayor encontrada en *Agave durangensis* de Sierra de Registro. A pesar de la variabilidad encontrada, perfiles "Tipo" para cada grupo pudieron ser detectados, los cuales se encontraron con una tendencia especie-específica, de acuerdo a los resultados del análisis de CP, el cual discriminó claramente entre los tres grupos. Esa clara discriminación sugiere que los perfiles fenólicos foliares pueden ser caracteres valiosos a nivel específico para la delimitación de los taxa estudiados. La separación evidente entre *Agave durangensis* de la Sierra de Registro y los individuos asumidos como pertenecientes a esa especie de la población de Mezquital, la diferencia en los perfiles fenólicos foliares de un grupo y del otro, así como la variación morfológica encontrada sugieren que cada uno de esos dos grupos puede representar entidades taxonómicas distintas. Tres subgrupos o quimiotipos fueron detectados por el análisis de CP, dentro de la población de Sierra de Registro, resultado de la alta variabilidad química dentro de esa población.

ABSTRACT

The foliar phenol composition of 23 individuals of *Agave durangensis* from Sierra de Registro, and 23 individuals assumed as *Agave durangensis*, from Mezquital were determined. With comparative aims 23 individuals of *Agave asperrima* from Cuencamé were analyzed in the same manner. The three all localities belong to State of Durango. The phenol compositions were determined by HPLC/DAD, by a gradient method. The binary matrices of presence/absence elaborated with the HPLC results were analyzed by a CP analysis to determine the intraspecific and interspecific variability and the significance of the phenol profiles to delimit and discriminate among species. Evaluations of morphological features of every individuals of Sierra de Registro and Mezquital were realized as well. The results showed that the flavonol kaempferol was the dominant phenol in all the analyzed individuals, it was found in 22 different glycoside derivatives. Intraspecific variability in the phenol profiles was detected in every group of studied plants, the highest found in the population of *Agave durangensis* from Sierra de Registro. In spite of that variability, profiles "Type" for each group could be detected, which were found in a species-specific tendency, according to the CP analysis, which clearly discriminated among the three groups. That clear discrimination suggests that foliar phenol profiles can be worthy markers at specific level to delimitate the taxa of this study. The evident separation between *Agave durangensis* from Sierra de Registro and the individuals assumed as that species but from Mezquital, the variations in the phenolic profiles between both groups, and the morphological variation found suggest that each group can represent different taxonomic entities. Three subgroups or chemotypes were detected, by the CP analysis, in the population of Sierra de Registro, as a result of the high chemical variation inside this population.

I. INTRODUCCIÓN

En el mundo existen aproximadamente 200 especies de agaves, distribuidas desde el sur de Estados Unidos hasta Venezuela. De esas especies, el 75% (150) se encuentra en territorio mexicano (García-Mendoza 1997). El número de especies reportado para Durango ha variado de 22 especies (Galván y González 1991) a 27 (González-Elizondo *et al.* 2009)

En Durango *Agave durangensis* es una especie que sustenta una actividad económica importante de producción de mezcal, misma que se realiza con plantas colectadas de sus poblaciones naturales (Valenzuela-Ruiz *et al.* 2003). Esta práctica trae el riesgo de provocar la degradación de su hábitat, debido a la sobreexplotación, situación que podría causar una potencial extinción del recurso.

Valenzuela-Zapata (2007) menciona que en algunas áreas de Jalisco la elaboración de mezcal es artesanal y a partir de más de una sola especie. En Durango la elaboración de mezcal sigue procedimientos básicamente tradicionales (Valenzuela-Ruiz *et al.* 2003), lo anterior sugiere que en este último Estado, como en Jalisco más de una especie de *Agave* es utilizada para producir esa bebida alcohólica.

Agave durangensis presenta una alta variabilidad morfológica (Gentry, 1982), por lo que su delimitación como especie es una tarea difícil. Debido a esa alta variabilidad algunos autores (Valenzuela-Ruiz. *et al.* 2003) se han referido a este recurso como un complejo más que una sola especie. Lo anterior da pauta para buscar otros caracteres que aunados a los morfológicos, ayuden a la delimitación específica de ese recurso.

Los perfiles fenólicos son caracteres químicos que han sido utilizados en otros grupos de plantas para delimitar taxa a diferentes niveles y para ubicarlos en un sistema de clasificación. La detección de variabilidad genética de poblaciones también ha sido estimada por medio de esos caracteres químicos.

En la revisión bibliográfica que se llevó a cabo para la realización de este estudio no se encontraron reportes sobre la composición fenólica de *Agave durangensis* y sus implicaciones taxonómicas. Por tal motivo, y dada la importancia que este recurso tiene para Durango y al mismo tiempo el riesgo al que está siendo sometido por la sobreexplotación de que está siendo objeto, además de la problemática taxonómica de su delimitación específica, se considera que los resultados de este trabajo pueden ser relevantes.

En este trabajo se determinó la variabilidad intra e interespecífica de los perfiles fenólicos foliares obtenidos por HPLC/DAD, de individuos presuntamente identificados como *Agave durangensis* de dos poblaciones naturales para determinar el valor de esos caracteres químicos como marcadores específicos. Con fines comparativos tejido foliar de *Agave asperrima* fue analizado de la misma manera.

II. ANTECEDENTES

2.1 La familia Agavaceae

La familia Agavaceae es nativa del Continente Americano, se encuentra distribuida principalmente en los ambientes áridos y semiáridos (Rocha *et al.* 2006). Sus límites se extienden desde el suroeste de Estados Unidos y las islas del Caribe, hasta el norte de Sudamérica (Ávila *et al.* 2006, García y Galván, 1995). México es considerado el centro de origen de esta familia debido a que en su territorio se encuentra la mayor riqueza y diversidad de géneros de la misma (García-Mendoza, 1995). Dentro de esta familia se reconocen nueve géneros y entre 293 (Good-Ávila *et al.* 2006) y 300 especies (Rocha *et al.* 2006). Para México, García-Mendoza y Galván (1995) reportan 217 especies.

Las características distintivas de los elementos de la familia Agavaceae son el arreglo de roseta de las estructuras foliares; un número cromosómico básico de 30, cinco cromosomas grandes y 25 pequeños (Rocha *et al.* 2006); semillas con fitomelano, que les da la pigmentación negra; flores grandes bisexuales; y frutos triloculares (García-Mendoza y Galván, 1995).

2.2 El género *Agave*

Las características que distinguen al género *Agave* son el arreglo radial de las hojas, la presencia de dientes a lo largo de las hojas, una espina terminal en las mismas, cutícula cerosa, inflorescencias grandes que pueden ser racimosas o paniculadas, frutos dehiscentes en forma de cápsulas, numerosas semillas negras (Gentry 1982).

El género *Agave* es el más grande de la familia Agavaceae, incluye alrededor de 166 especies, de las cuales 125 se encuentran en México, por lo que ese país es el de mayor riqueza y diversidad de especies de *Agave* (Good-Ávila *et al.* 2006; Rocha *et al.* 2006). García-Mendoza (2007) considera un total de especies para México de 150 y 36 taxa de categorías infraespecífica, representando ésto el 75% de las especies conocidas en el mundo, de las cuales para Durango, Galván y

González (1991) reconocen 22, mientras que González-Elizondo *et al.* (2009) reconocen 27, entre ellas *Agave durangensis*.

2.3 Aspectos botánicos de *Agave durangensis*

Agave durangensis es una de las especies más importantes en el Estado de Durango debido a su importancia económica como materia prima de una industria regional de elaboración de mezcal. Esta especie pertenece a la sección *Ditepalae*, la cual se caracteriza por incluir, de acuerdo a Gentry (1982), plantas de pequeñas a grandes, con rosetas glaucas brillantes, productoras de semillas (existen especies de *Agave* que no se reproducen por semillas y su reproducción es básicamente vegetativa García-Mendoza 2007), con hojas firmes a rígidas, con panículas generalmente abiertas; yemas florales generalmente rojizas, flores maduras amarillas; tépalos dimórficos, los externos más grandes y sobreponiendo los internos, generalmente rojos en la punta.

La descripción morfológica de *Agave durangensis* que se presenta a continuación está basada en el trabajo de Gentry (1982). El tallo de esta especie es corto, cenizo. Presenta hojas lanceoladas, derechas o curvas, planas o cóncavas especialmente hacia el ápice, gruesas y convexas en la base; ásperas, espinosas, con márgenes crenados o con espinas de uno a dos cm de largo, aplanadas, ampliamente separadas (Fig. 1); las hojas varían de 40 a 90 cm de largo por 14 a 22 cm de ancho, acomodadas en roseta, ésta última de 80-120 cm de alto por 120-180 cm de ancho (Fig. 2 y 3), las hojas presentan una punta de 4 a 6 cm de largo, acanalada en su alrededor, con coloraciones de gris a café (Fig. 4), El tallo floral varía de 7 a 8 m de altura, con 18 a 30 ramificaciones hacia la parte superior, brácteas pedunculares de 15 a 25 cm de longitud. Flores en pequeños grupos; de 60 a 80 mm de longitud; casi erectas; de color amarillo; con ovario ínfero de 30-45 mm (Fig. 5). Las semillas son pequeñas, con forma alunada u ovada; bordes pequeños que están levantados semejando alas.

Agave durangensis es morfológicamente muy variable (Gentry 1982). Variaciones en tamaño, longitud y color de las hojas, y tamaño y forma de los dientes son fácilmente apreciables en campo. Esa alta variabilidad crea dificultad para

establecer su delimitación específica, lo que justifica la búsqueda de caracteres diferentes a los morfológicos pero que complementen a estos, como los perfiles fenólicos, para abordar la problemática taxonómica de este grupo de plantas.



Figura 1.- *Agave durangensis* Mezquital (Foto: Vicente Hernández V. 2009).



Figura 2 y 3.- *Agave durangensis* Sierra del Registro (Fotos: Norma Almaraz A. 2008).

Agave durangensis se distribuye de manera natural al sur del Estado de Durango y norte de Zacatecas. Dentro del Estado de Durango se encuentra en los municipios de Durango, Nombre de Dios y Mezquital (Gentry 1982; González-Elizondo *et al.* 2009).



Figura 4.- *Agave durangensis* Mezquital (Foto: Vicente Hernández V. 2009).



Figura 5.- *Agave durangensis* Mezquital (Foto: Vicente Hernández V. 2009).

2.4 Aspectos etnobotánicos del género *Agave*

El uso del agave se remonta a los últimos 9000 años en Mesoamérica (Gentry 1982), evidencias de esto lo da Callen (1965, citado por Gentry, 1982) luego de examinar los fósiles de excretas humanas procedentes de estudios realizados en México en las décadas de 1950 y 1960; ese autor menciona algunas especies de plantas que fueron parte de la dieta humana hace alrededor de 5000 años antes de Cristo: *Setaria*, *Ceiba*, *Cactus*, *Cucurbita*, *Phaseolus*, *Capsicum*, *Amaranthus*, *Diospyros*, *Zea* y *Agave*, este último fue encontrado en un 25-60 % de las excretas fosilizadas.

Los usos que del género *Agave* hicieron las culturas americanas fueron muy variados, algunos de ellos prevalecen en la actualidad. Además de alimento, se usó la fibra que de él se extraía para la elaboración de herramientas, cuerdas, canastas, bolsas esteras, ropa (Almaraz 1984), sandalias, sombreros, brochas entre otros (Palma 2000). También tuvo un uso medicinal por su acción cicatrizante y diurética (Pardo 2007). El principal uso que ha prevalecido es la elaboración de bebidas alcohólicas destiladas, llamadas mezcal. Cuando los españoles arribaron a territorio mexicano, encontraron que algunos indígenas tomaban una bebida embriagante denominada “poliuhqui”, que en la actualidad se conoce como pulque (Varela, 2006).

En Durango se ha registrado el uso empírico (comestible, medicinal, artesanal, ornamental) de diversas especies de *Agave*, entre ellas *A. durangensis*, por los Tepehuanes del Sur y por la población campesina en general (González y Galván, 1992, González-Elizondo *et al.* 2009).

La elaboración de mezcal en México es una actividad realizada principalmente en los estados de Oaxaca, Durango, Zacatecas, Guerrero, San Luís Potosí, Tamaulipas y Guanajuato, con plantas de *Agave* de tierras de agricultura de temporal. De acuerdo a Illsley (2007) más de una decena de especies de *Agave*, distribuidos en casi una tercera parte del territorio nacional, sobre todo durante la época de estiaje, cultivados y recolectados, se convierten en mezcal.

Agave durangensis es una de las especies más importantes en el Estado de Durango debido a su importancia económica como materia prima de una industria regional de elaboración de mezcal.

2. 5 Compuestos fenólicos

Las plantas sintetizan una gama muy amplia de compuestos que por no habérseles encontrado una participación directa en los procesos fundamentales de fotosíntesis, respiración, desarrollo y crecimiento se les llamó metabolitos secundarios (Kutchan, 2001). Aunque en la actualidad su apreciación ha cambiado y se les reconocen participaciones muy diversas en los procesos fisiológicos (Taiz y Zeiger, 2006) y en las relaciones ecológicas de las plantas para asegurar la sobrevivencia como especie (Almaraz *et al.*, 1998; Hadacek, 2002), a esos compuestos se les sigue llamando secundarios.

Los metabolitos secundarios se dividen en tres grupos de acuerdo a sus rutas biosintéticas (Figuras 6 y 7): terpenos, compuestos nitrogenados y compuestos fenólicos (Taiz y Zeiger, 2006). Los compuestos fenólicos, fenoles, o polifenoles son un grupo de metabolitos de tamaño molecular muy variable, algunos son pequeños, como los ácidos caféico y ferúlico, con polaridades diferentes, y otros son grandes polímeros no polares como las ligninas y los taninos.

Harborne (1989) divide a los fenoles en 11 grupos de acuerdo al número de carbonos que se encuentran en su estructura molecular: fenoles simples y benzoquinonas, de 6 átomos de carbono (C_6); ácidos fenólicos, de 7 (C_6-C); acetofenonas y ácidos fenilacéticos, de 8 (C_6-C_2); ácidos hidroxicinámicos, fenilpropenos, cumarinas, isocumarinas, y cromonas, de 9 (C_6-C_3); naftoquinonas, de 10 (C_6-C_4); xantonas, de 13 ($C_6-C_1-C_6$); estilbenos y antraquinonas, de 14 ($C_6-C_2-C_6$); flavonoides, de 15 ($C_6-C_3-C_6$); lignanos y neolignanos, de 18 ($(C_6-C_3)_2$); biflavonoides, de 30 ($(C_6-C_3-C_6)_2$); y polímeros de alto peso molecular como las ligninas y los taninos, de n átomos de carbono [$(C_6-C_3)_n$ y $(C_6-C_3-C_6)_n$, respectivamente].

Los compuestos fenólicos, principalmente los flavonoides, tienen una gama muy amplia de funciones dentro de las plantas. Pueden participar en el establecimiento

de las relaciones de competencia con otras plantas, actuando como agentes alelopáticos (Nilsen *et al.*, 1999; Ervin y Wetzel, 2000), contra invasiones de hongos, bacterias y virus (Harborne, 1993; Ryals *et al.* 1994); en relaciones de mutualismo en la atracción de polinizadores y dispersores de semillas (Mol *et al.* 1998; Ramos *et al.* 1998; Pichersky y Gang, 2000); en funciones defensivas contra el ataque de herbívoros (Elliger *et al.* 1980; Williams y Harborne, 1989; Dewick, 1994; Foo *et al.* 1997); como protección contra la radiación ultravioleta y la desecación (Burger y Edwards, 1996); como reserva de material nitrogenado (Poulton, 1990); así como en la fijación del N₂ atmosférico, a través de la formación de nódulos en la relación simbiótica de las raíces de las leguminosas con bacterias del género *Rhizobium* (Peters y Long, 1988; Bohm, 1994; Stafford, 1997; Novák *et al.* 2002; Peck *et al.* 2006).

2.5.1 Los flavonoides

Dentro de los fenoles, los flavonoides (C₆-C₃-C₆) son los que se encuentran más ampliamente distribuidos dentro del reino vegetal y son los más abundantes, los más diversos (Markham, 1982), y los preferidos para estudios quimiotaxonómicos (Harborne y Turner, 1984; Campos *et al.* 1997; Almaraz-Abarca *et al.* 2006, Almaraz-Abarca *et al.* 2008).

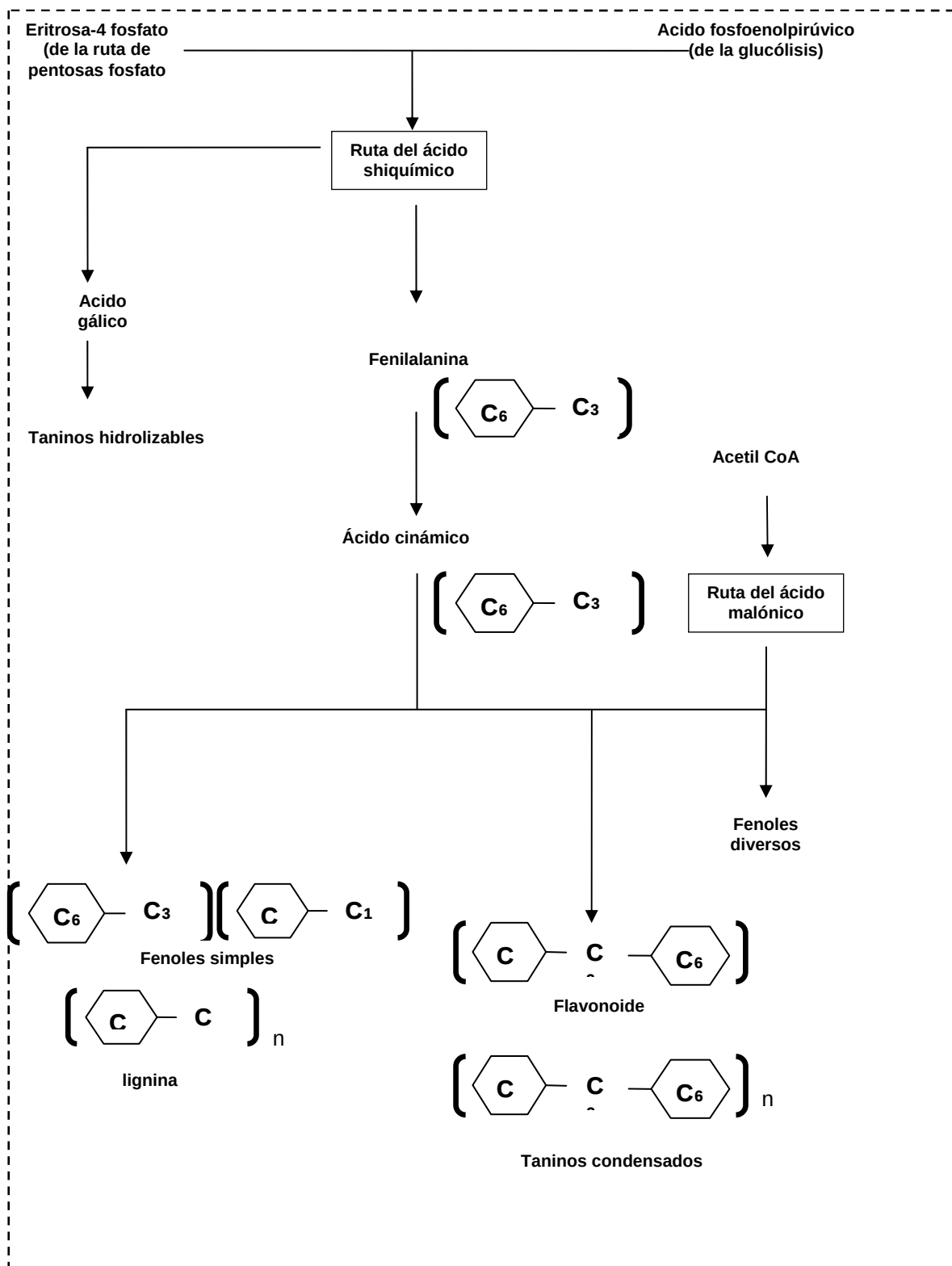


Figura 6.- Los compuestos fenólicos se biosintetizan en las plantas por rutas biosintéticas diferentes. La mayoría de los compuestos fenólicos derivan de la fenilalanina, un producto de la ruta del ácido shiquímico. (Tomado de Taiz y Zeiger, 2006).

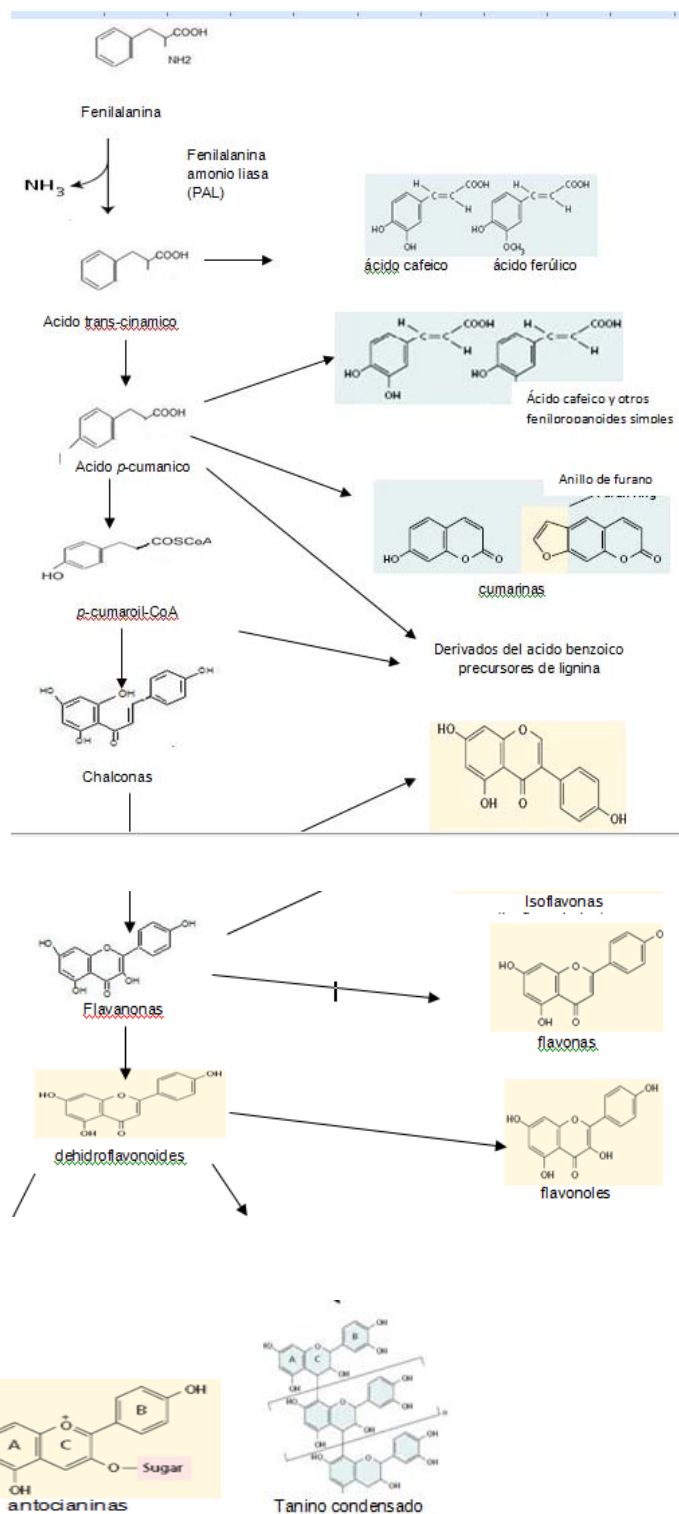


Figura 7.- Ruta de la biosíntesis de fenoles a partir de la fenilalanina. La formación de la mayoría de los fenoles, incluidos los fenilpropanoides simples, cumarinas, derivados del ácido benzoico, ligninas, antocianinas, isoflavonoides, taninos condensados y otros flavonoides, se inicia con el aminoácido fenilalanina (Tomado de Taiz y Zeiger, 2006).

Dentro de las células vegetales los flavonoides se pueden encontrar como glicósidos o como agliconas. En su forma de agliconas, los flavonoides poseen un anillo de benceno (llamado anillo A) unido a un anillo heterocíclico de seis miembros (anillo C), el cual está a su vez unido a un anillo fenil (o anillo B) como sustituyente en la posición 2 (Figura 8).

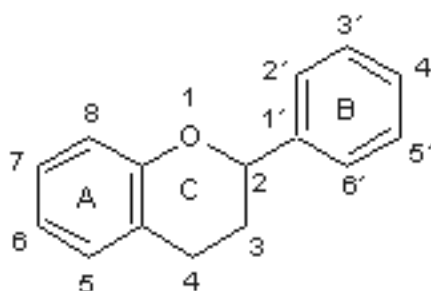


Figura 8.- Estructura básica de los flavonoides.

Los diferentes grados de oxidación en el anillo C son la base de la clasificación de los flavonoides y fuente primaria de la gran diversidad química de estos compuestos. Un segundo nivel de diversidad está dado por los diferentes patrones de sustituciones que pueden encontrarse, como hidroxilación, glicosilación, metilación, metoxilación, y acilación en los anillos A y B. Esos patrones dan la estructura particular de cada compuesto dentro de cada grupo de flavonoides.

Los flavonoides más abundantes en las plantas son las flavonas y los flavonoles, ambos se caracterizan por presentar un doble enlace entre el C2 y el C3 del anillo heterocíclico C. Los flavonoles se diferencian de las flavonas porque poseen un grupo hidroxilo en la posición 3, el cual está ausente en las flavonas (Figura 9).



Figura 9.- Estructura básica de las flavonas (izquierda) y los flavonoles (derecha).

Otros tipos de flavonoides son a) los flavanoides o dihidroflavonoides (Figura 10), que no poseen un doble enlace entre los carbonos 2 y 3, se incluyen en este grupo las flavanonas (dihidroflavonas), los dihidroflavonoles (flavanonoles o 3-hidroxiflavanonas), las dihidrochalconas, los flavanos, y los flavanoles; b) las antocianinas (Figura 11), estas son sustancias coloridas que carecen de un grupo carbonilo en la posición 4, presentan un grupo hidroxilo en la posición 3 y dos dobles enlaces en el anillo heterocíclico y; c) los isoflavonoides (Figura 12), que se caracterizan por presentar una desviación del anillo fenil (B) de la posición 2 a la 3.

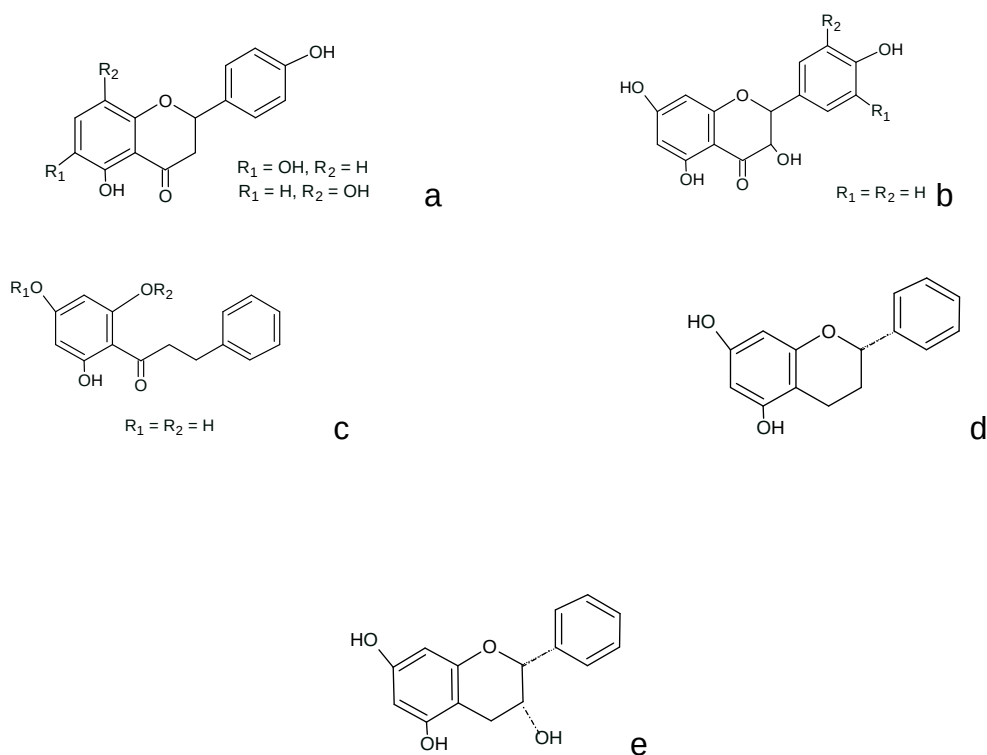


Figura 10.- Estructuras básicas de a: flavanonas, b: dihidroflavonoles, c: dihidrochalconas, d: flavanos y e: flavanoles.

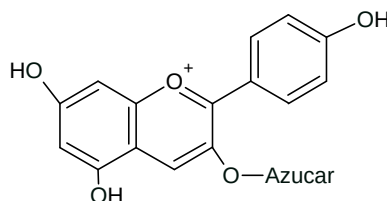


Figura 11.- Estructura básica de las antocianinas.

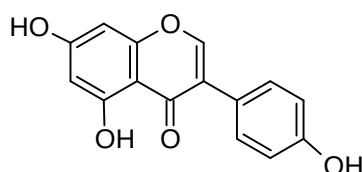


Figura 12.- Estructura básica de los isoflavonoides.

2.5.2 Los fenoles como marcadores taxonómicos

Uno de los fines de la taxonomía es encontrar las relaciones entre los diferentes grupos de organismos, para ello se consideran diversos caracteres además de los morfológicos, entre las cuales se encuentran los caracteres químicos.

La determinación de la variación y la distribución de los perfiles de los diversos metabolitos secundarios entre distintos taxa puede emplearse no solo para conocer la riqueza de compuestos del metabolismo secundario, sino también para encontrar las tendencias en la distribución de esos caracteres en los diferentes grupos de plantas, lo que puede contribuir a solucionar problemáticas taxonómicas, aportando elementos que puedan ser utilizados en la delimitación de taxa y a establecer relaciones evolutivas entre grupos (Montiel 2000).

Los caracteres químicos de una planta, al igual que los morfológicos, están determinados por la carga genética, sin embargo los primeros presentan como ventaja el estar determinados por un número menor de genes y en ocasiones, como el caso de algunos flavonoides por un solo gen (Forkmann 1994), a

diferencia de los morfológicos que son el resultado de un número variable de genes (Harborne y Turner 1984).

Dentro de los metabolitos secundarios los fenoles, y principalmente los flavonoides son los más frecuentemente utilizados en estudios taxonómicos (Harborne y Turner 1984) debido a su amplia distribución dentro del reino vegetal, a su gran variabilidad estructural, a su síntesis y acumulación poco afectadas por condiciones ambientales, a su relativa facilidad de obtención y análisis, y a que en muchas especies sus perfiles tienen una tendencia especie-específica (Markham 1982; Campos 1997; Almaraz-Abarca *et al.* 2007).

2.6 Estudios quimiotaxonómicos del género *Agave*

Existe un número elevado de reportes que hacen referencia a la importancia de los perfiles fenólicos en estudios de discriminación entre taxa relacionados (Bate-Smith *et al.* 1975; Del Pero *et al.* 1997; Almaraz-Abarca *et al.* 2006). Una tendencia especie-específica de los perfiles fenólicos de tejidos reproductivos como el polen (Almaraz-Abarca *et al.* 2008; Campos *et al.*, 1997; Almaraz-Abarca *et al.* 2004) y de tejidos somáticos ha sido reportada para muchas especies de plantas (Fukai *et al.* 1996; Grayer *et al.* 1996). Sin embargo no obstante su importancia económica y ecológica, los esfuerzos enfocados a determinar el valor taxonómico de los perfiles fenólicos en *Agave* son muy pocos a pesar de la relevancia taxonómica de éstos; y a pesar de la problemática taxonómica sobre la delimitación de las diferentes especies de éste género.

Las especies del género *Agave* son ricas en saponinas y de hecho la mayoría de los estudios fitoquímicos en este género han estado enfocados principalmente a determinar la composición de esos metabolitos secundarios (Morales 1972; Wilkomirski *et al.* 1975; Blunden *et al.* 1978; Uniyal *et al.* 1991) sobre cualquier otro. Una de las pocas especies de *Agave* analizadas por su composición fenólica es *Agave americana*. En esa especie se han encontrado en tejidos somáticos flavonoides complejos, como 5,7-dihidroxi-6,5'-dimetoxi-3',4'-metilenedioxiflavanona (Parmar *et al.* 1992), y canferol-3-glucósido y canferol-3-rutnósido en flores (Subramanian y Nair 1970). Otro tipo de flavonoides

complejos, como los flavanoides 7-hidroxi-3-(4-metoxibenzil)-cromano, 7-hidroxi-3-(4-metoxibenzil)-cromano-4-ona, y 5,7-dihidroxi-3-(4-metoxibenzil)-cromano-4-ona, fueron encontrados en *Agave americana* y *Agave barbedensis* por Tinto *et al.* (2005). Jay (1994) menciona la presencia de glicosilflavonoides en otras especies de agaváceas: dos especies del género *Dasyllirion*, *Nolina recurvata*, y *Yucca aloifolia*.

III. JUSTIFICACIÓN

Agave durangensis es un recurso natural estratégico para el Estado de Durango porque sustenta una industria regional de producción de mezcal, la cual tiene un importante potencial de desarrollo. Sin embargo, hasta el momento, la elaboración de esa bebida alcohólica se realiza principalmente a partir de plantas de agave recolectadas de sus poblaciones naturales sin control de la especie que se recolecta para ese fin. *Agave durangensis* es un grupo morfológicamente muy variable cuya delimitación taxonómica no está bien establecida, y la identificación clara de cualquier especie de planta que sea la materia prima para alguna industria es un requisito fundamental para el establecimiento de programas de manejo y para cumplir con estándares de calidad.

Agave durangensis es una especie halógama y monocárpica, cuya reproducción es básicamente por semillas. Sin embargo, para la preparación de las plantas para la elaboración de mezcal, el escape floral es eliminado de manera temprana, evitando así el desarrollo de la inflorescencia. Esta práctica está limitando tanto la capacidad reproductiva de la especie, como haciendo difícil el disponer de las estructuras más importantes para la identificación taxonómica: la inflorescencia y las flores. Caracteres diferentes a los morfológicos, como los perfiles fenólicos, se consideran marcadores valiosos a nivel específico y han sido empleados en una gama muy amplia de grupos de plantas para delimitar especies y para ubicar taxa en un sistema de clasificación.

Por lo anterior, se consideró importante estudiar la composición fenólica de *Agave durangensis* de dos poblaciones naturales, estimar la variabilidad intra e interpoblacional de esa composición y determinar el valor de esos caracteres químicos para estudios taxonómicos de delimitación específica para este taxon.

IV. OBJETIVO

Determinar la variabilidad intrapoblacional, interpoblacional e interespecífica de los perfiles fenólicos foliares de dos poblaciones naturales de *Agave durangensis* (Sierra de Registro, Durango y El Mezquital) y una de *Agave asperrima* (Cuencamé) para considerar su potencial como marcadores taxonómicos específicos para este grupo de plantas.

MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Descripción del área de estudio

El área de estudio se dividió en sitios de aproximadamente 1.5 hectáreas cada uno ubicados en los siguientes puntos (Figura 13); El de la Sierra de Registro, municipio de Durango, estuvo limitado por el siguiente par de coordenadas 23° 59' 26.2" N, 104° 22' 31" O y 23° 59' 33.7" N, 104° 22' 36.3" O. La altitud máxima fue de 1928 m.s.n.m. El suelo fue arenoso. La vegetación asociada estuvo compuesta principalmente por *Prosopis* sp., *Acacia* sp., y *Dasyllirion* sp.

El sitio de muestreo de El Mezquital se ubicó entre el par de coordenadas 23° 29' 4" N, 104° 26' 31.3" O y 23° 29' 3.6" N, 104° 26' 29.4" O. La textura del suelo se determinó como gravoso, con una altitud máxima de 1855 m.s.n.m. La vegetación asociada al sitio de muestreo fue *Dasyllirium* sp., *Lippia* sp., *Selaginella* sp., *Acacia* sp., *Bursera* sp.

El área de muestreo en la localidad de Cuencamé se ubicó entre el par de coordenadas: 25° 1' 0.5" N, 103° 45' 51.5" O y 25° 0.1' 59.7" N, 103° 45' 52.5" O. La textura del suelo se determinó como gravoso. La altitud máxima fue 1442 m.s.n.m. La vegetación asociada al sitio de muestreo fue *Opuntia* sp., *Fouqueiria* sp., *Euphorbia antisyphilitica*, *Larrea tridentata*.



Figura 13.- Sitios de colecta: Sierra de Registro, Durango (1), El Mezquital (2) y Cuencamé (3).

5. 2 Colecta del material vegetal

El tejido foliar de *Agave durangensis* y de *Agave asperima* se colectó durante junio de 2007, en la Sierra de Registro, en el municipio de Durango, (nombrados con números entre 200 a 233, serie 200); en el Km 7.5 de la Carretera Mezquital–Temoaya, en el municipio de El Mezquital (nombrados con números entre 500 a 522, serie 500); y en el Km 5 de la Carretera Cuencamé–Pedriceña del municipio de Cuencamé (nombrados con números entre 301 a 326, serie 300). De cada individuo se registraron datos morfológicos y se tomaron fotografías. Las muestras “voucher” de cada individuo muestreado se depositaron en el Herbario

CIIDIR. En cada localidad se colectaron 23 individuos. El muestreo se realizó de manera sistemática en individuos adultos. De cada individuo colectado se registraron datos morfológicos como altura de la planta, longitud de la hoja, anchura de la hoja en la parte media, y longitud de la espina terminal.

5.3 Preparación de extractos

Las muestras se secaron de manera individual en una secadora botánica. El material una vez seco, se pulverizó y se almacenó en obscuridad a temperatura ambiente hasta su uso en la preparación de los extractos.

Los extractos fenólicos crudos se prepararon de manera individual, de acuerdo al método descrito por Almaraz *et al.* (2007). Dos a cinco gramos de tejido pulverizado se maceraron en 20 ml de una solución acuosa de metanol al 60% (v/v), durante 24 horas a temperatura ambiente, en oscuridad y en agitación. Las suspensiones se centrifugaron a 8000 rpm, durante 10 minutos. Se recuperaron los sobrenadantes, que contienen los compuestos fenólicos. Las pastillas se volvieron a extraer en las mismas condiciones, pero con un tiempo de maceración de tres horas, se centrifugaron y los sobrenadantes respectivos se combinaron para formar los extractos crudos.

Cada extracto crudo se concentró a sequedad y se almacenó en obscuridad hasta su uso en el análisis de HPLC/DAD.

Para cada muestra se cuantificó la cantidad de extracto crudo obtenido, por medio de la diferencia de peso de cada uno de los recipientes antes y después de escontener los extractos concentrados a sequedad.

5. 4 Obtención de los perfiles fenólicos foliares por HPLC/DAD

Cada extracto crudo individual se resuspendió en 5 ml de una solución de metanol-agua al 60% (v/v), se centrifugó (10 min, a 4000 rpm) y se filtró para la determinación de su composición fenólica, de acuerdo al método descrito por Campos (1997). Alícuotas (20 µL) se analizaron en un equipo de HPLC/DAD Perkin Elmer Series 200, con detector de arreglo de diodos, y una columna Perkin

Elmer Brownlee C18 (4.6×250 mm, $5 \mu\text{m}$), por medio de un método en gradiente con acetonitrilo-agua. Los cromatogramas se registraron a 260 y 340 nm. Los datos espectrales de cada pico se obtuvieron en el intervalo de 220 a 400 nm. La identificación estructural de los compuestos resueltos se realizó por la comparación directa de los tiempos de retención y los espectros de absorción de los compuestos con los de los estándares, y de acuerdo a los comportamientos cromatográfico y espectral y lo descrito por Mabry *et al.* (1970) y Campos y Markham (2007).

5. 5 Análisis de datos

Se elaboró una matriz binaria de presencia/ausencia formada por todas las muestras individuales contra todos los compuestos fenólicos resueltos en los respectivos cromatogramas de HPLC/DAD (69 individuos contra 25 compuestos). Matrices similares fueron también construidas para comparar la serie 200 y 300, y la serie 500 y 300. Cada compuesto se trató como un carácter químico individual. Las matrices binarias se sometieron a análisis de componentes principales (CP), usando el programa PAST.

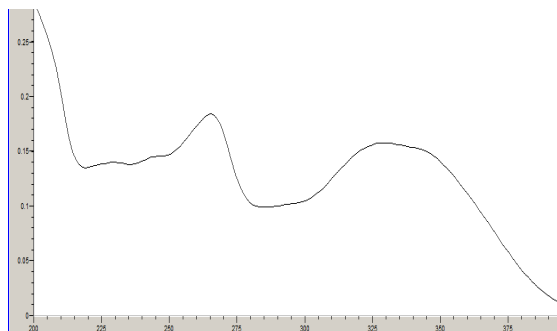
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Composición fenólica foliar

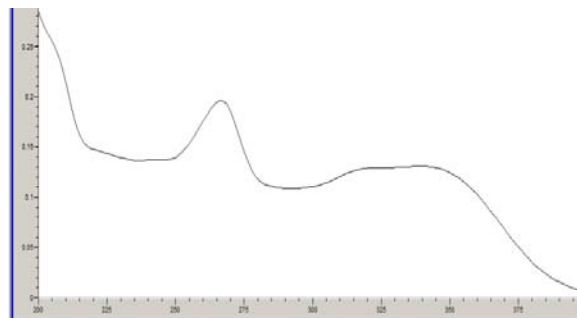
Los estudios sobre la composición fenólica del género *Agave* son escasos, únicamente pocas especies han sido analizadas (Jay, 1994). Este estudio reporta los resultados de dos especies previamente no estudiadas por sus perfiles fenólicos, *Agave durangensis* y *Agave aspérrima*, que pueden ser útiles para sugerir la variabilidad que puede ser encontrada en esos grupos de plantas.

Un total de 25 compuestos fueron detectados para todas las muestras de tejido foliar, por medio del análisis de HPLC/DAD. Todos fueron flavonoides, particularmente flavonoles. De ellos 22 fueron derivados glicósidos de canferol y tres derivados glicósidos de quercetina (Figura 14).

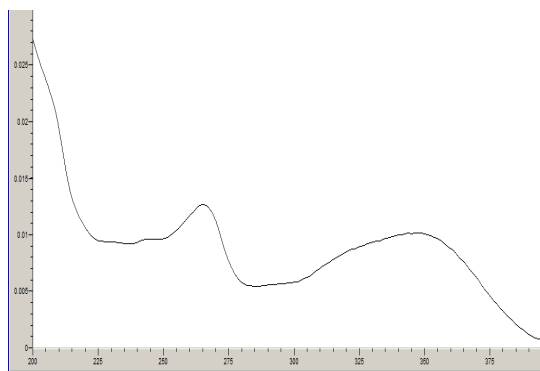
Donde se observa la variación del espectro que presentan de los compuestos fenólicos encontrados y el tiempo de retención en que son detectados.



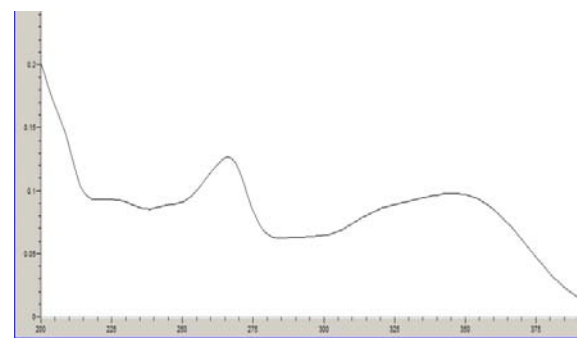
F1: Glicósido de canferol, TR = 18.2



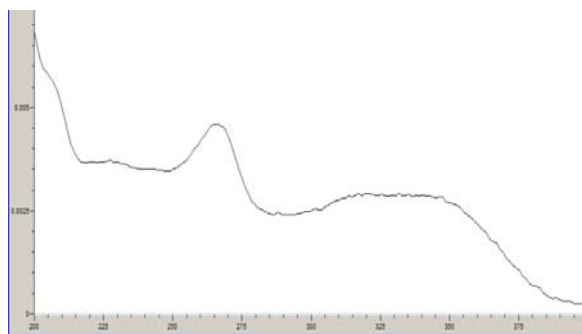
F2: Glicósido de canferol, TR = 18.8



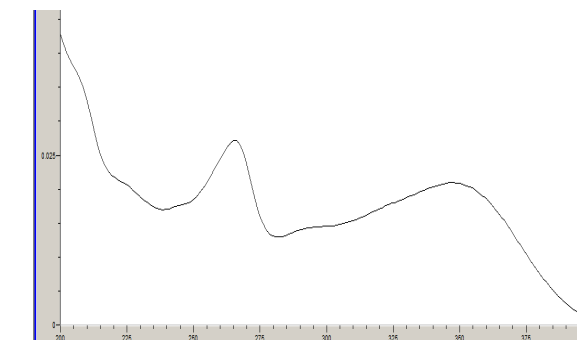
F3: Glicósido de canferol, TR = 19.5



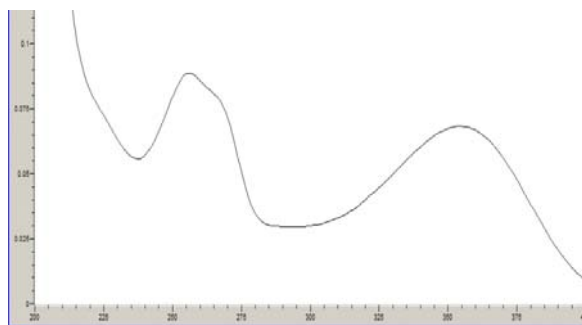
F4: Glicósido de canferol, TR = 22.4



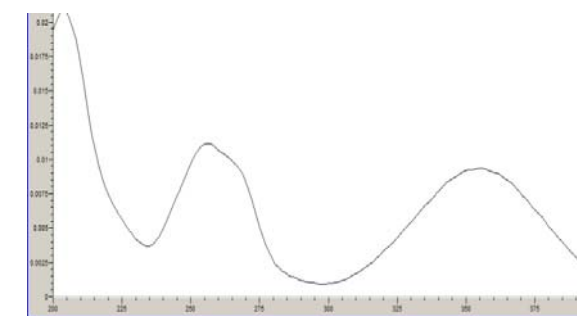
F5: Glicósido de canferol, TR = 23.3



F6: Glicósido de canferol, TR = 24.4

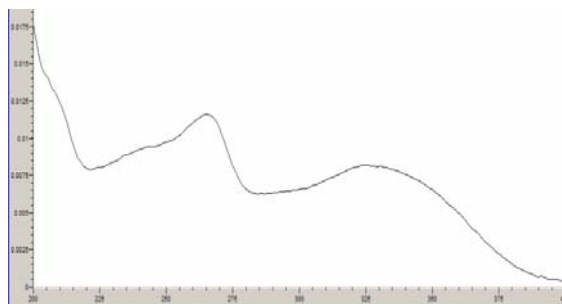


F7: Glicósido de quercetina, TR = 25.1

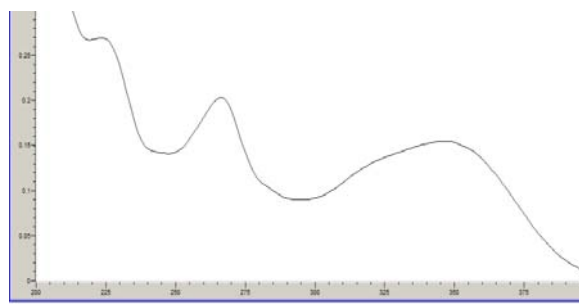


F8: Glicósido de quercetina, TR = 27.0

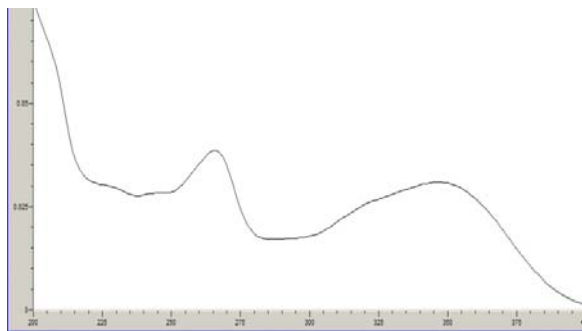
Figura 14.- Espectros UV de los flavonoides detectados en el tejido foliar de *Agave durangensis* y *Agave asperrima* en Durango, México.



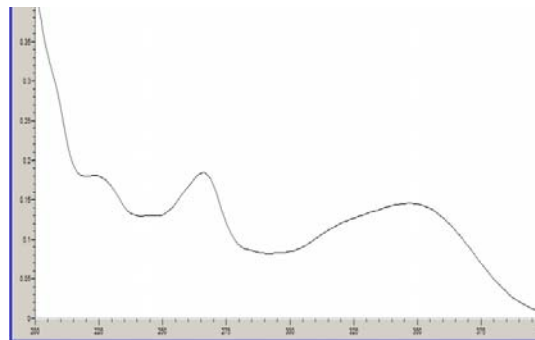
F9: Glicósido de canferol, TR = 27.7



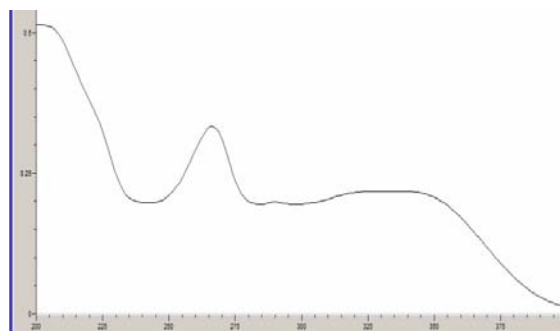
F10: Glicósido de canferol, TR = 28.3



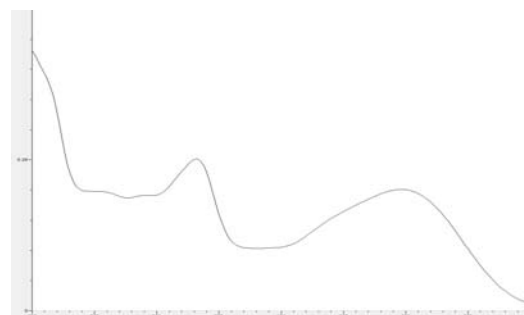
F11: Canferol-3,7-O-diglicósido, TR= 27.6



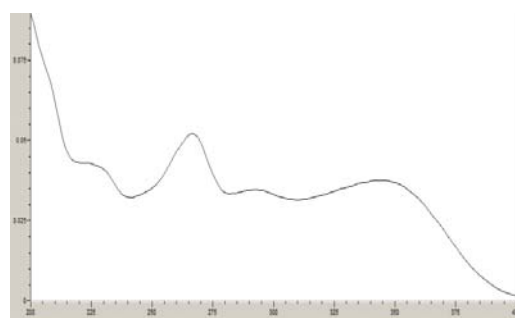
F13: Canferol-3-O-[6-acetilglucósido]-7-O-glucósido, TR = 29.9



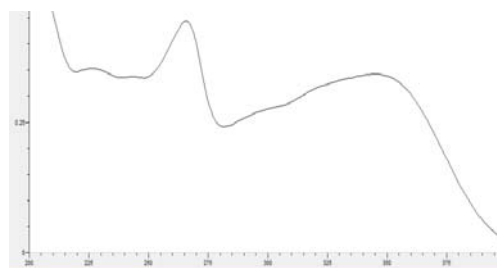
F15: Glicósido de canferol, TR = 31.4



F16: Glicósido de canferol, TR = 32.5

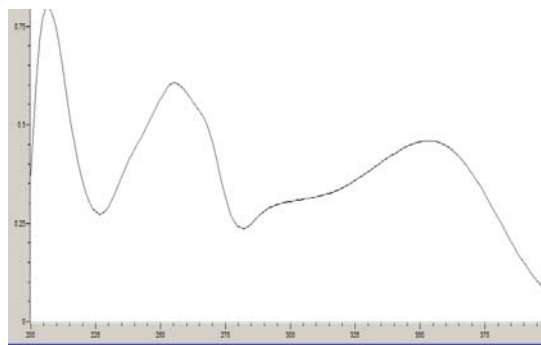


F18: Glicósido de canferol, TR = 33.6

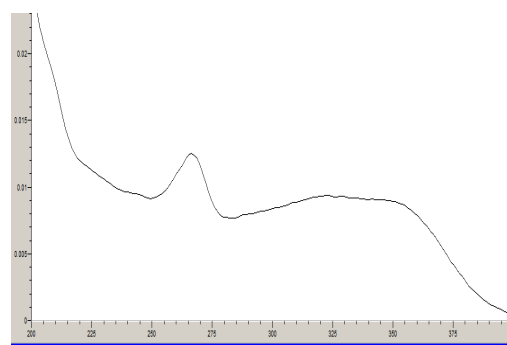


F19: Canferol-3-O-[ramnosil(1-6)glucósido], TR = 34.9

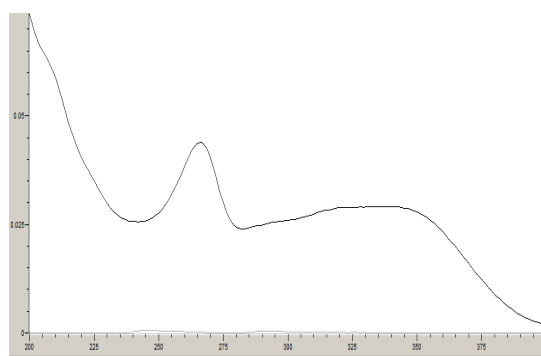
Figura 14.- (Continuación)- Espectros UV de los flavonoides detectados en el tejido foliar de *Agave durangensis* y *Agave asperrima* en Durango, México.



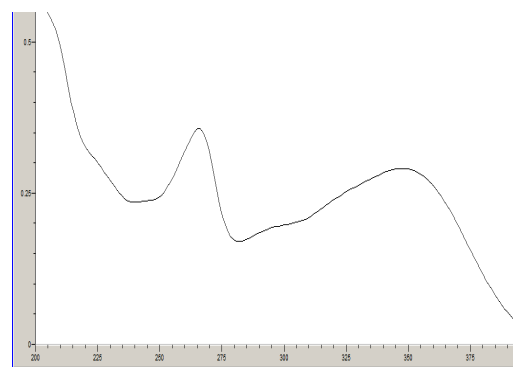
F20: Quercetina-3-arabinosido, TR = 34.7



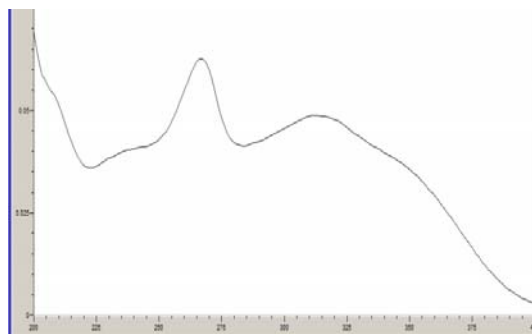
F22: Glicósido de canferol, TR = 35.4



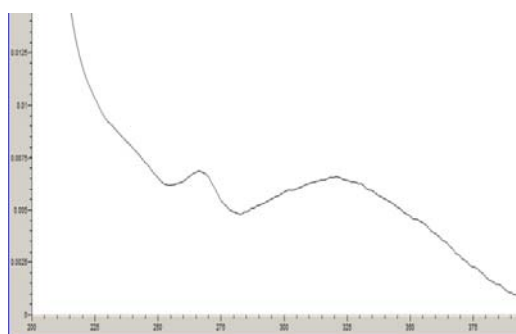
F23: Glicósido de canferol, TR = 37.148



F24: Canferol-3-O-ramnosido, TR = 38.1

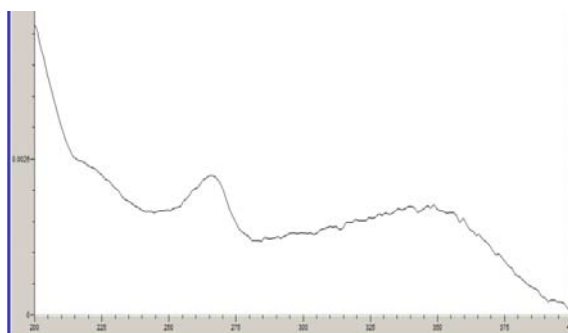


F25: Glicósido de canferol, TR = 37.1

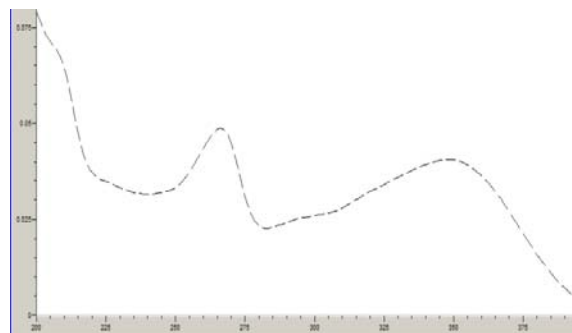


F26: Glicósido de canferol, TR = 38.5

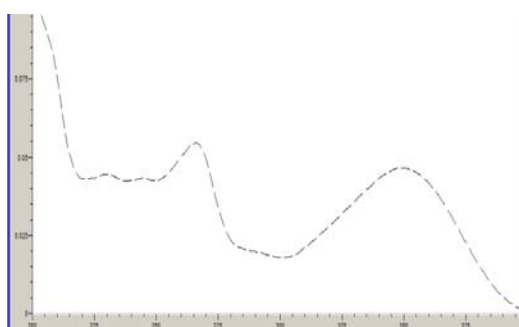
Figura 14.- (Continuación) Espectros UV de los flavonoides detectados en el tejido foliar de *Agave durangensis* y *Agave asperrima* en Durango México.



F27: Glicósido de canferol, TR = 38.8



F29: Glicósido de canferol, TR = 40.0

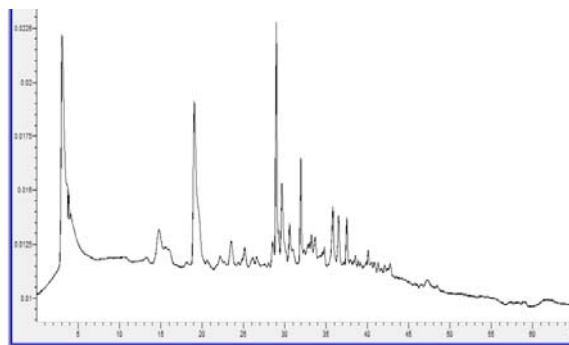


F30: Glicósido de canferol, TR = 40.9

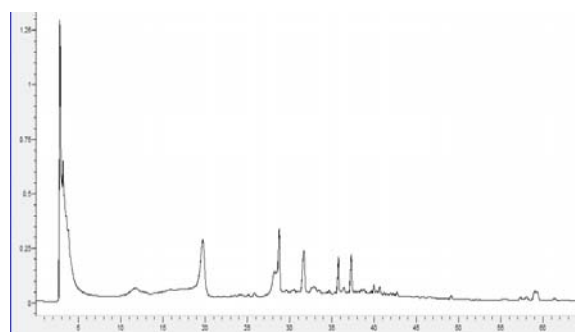
Figura 14.- (Continuación) Espectros UV de los flavonoides detectados en el tejido foliar de *Agave durangensis* y *Agave asperrima* en Durango México.

Los cromatogramas obtenidos por HPLC del análisis del tejido foliar de *Agave durangensis* de la localidad de Sierra de Registro (Figura 14) reveló la presencia de 20 derivados glicósidos de canferol y en los individuos 203, 225 y 228 se encontraron tres diferentes derivados glicósidos de quercetina, haciendo un total de 23 flavonoides (Tabla 1). Los cromatogramas de los individuos de *Agave durangensis* de la localidad de Mezquital (Figura 15) revelaron un número menor de flavonoides, en total cinco, todos derivados glicósidos de canferol (Tabla 2).

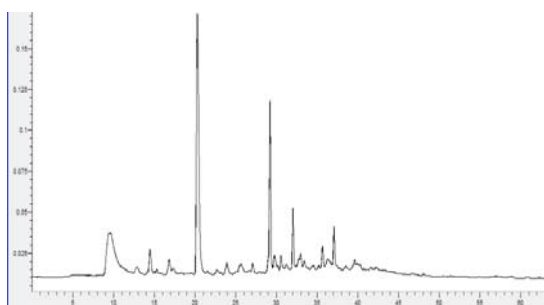
En el tejido foliar de *Agave asperrima* los cromatogramas revelaron (Figura 16) únicamente tres derivados glicósidos de canferol (Tabla 3).



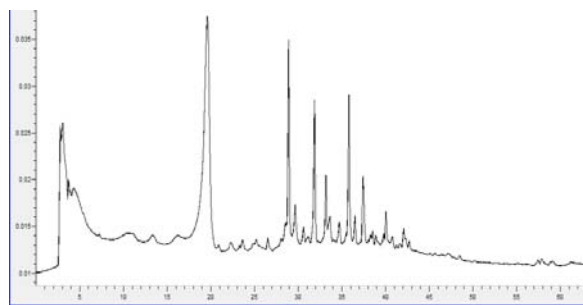
Individuo 201



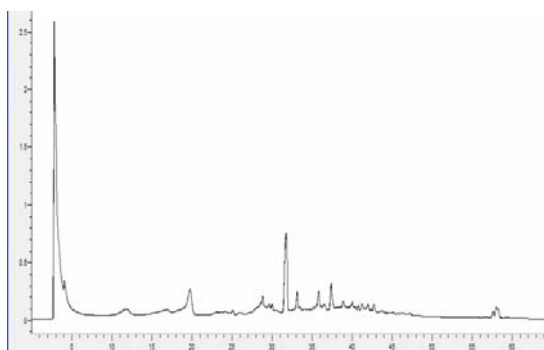
Individuo 202



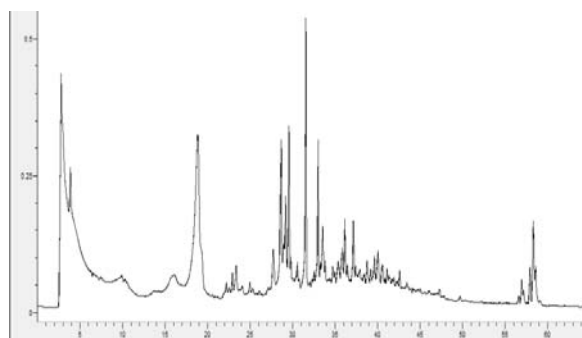
Individuo 203



Individuo 204



Individuo 211



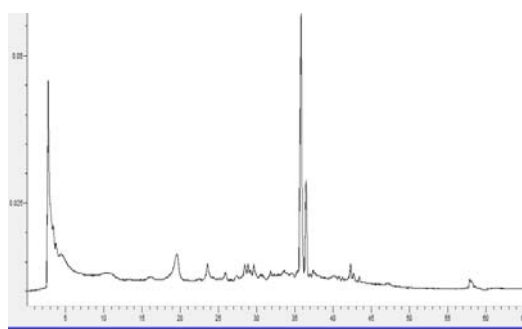
Individuo 214

Figura 15.- Cromatogramas de los perfiles fenólicos foliares de algunos individuos de *Agave durangensis* de la localidad de Sierra de Registro, obtenidos por HPLC/DAD.

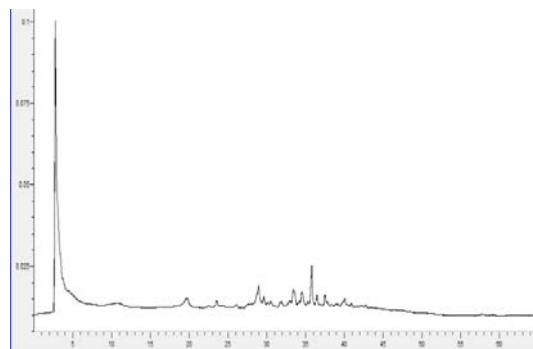
Tabla 1.- Distribución individual de los flavonoides foliares de *Agave durangensis* de la Sierra de Registro.

Comp	RT (min)*	Id. Q.	200	201	202	203	204	206	209	210	211	213	214	216	218	219	221	224	225	228	229	230	231	232	233
F1	18.227±0.093	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F2	18.865±0.00	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F3	19.598±0.035	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
F4	22.489±0.042	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0
F5	23.326±0.089	KG	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F6	24.438±0.00	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F7	25.142±0.00	QG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
F8	27.067±0.00	QG	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F9	27.710±0.060	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
F10	28.313±0.014	KG	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1
F11	27.623±0.051	K3,7OG	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0
F12	29.955±0.104	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F13	29.969±0.090	KACG	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
F14	31.610±0.056	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F15	31.434±0.131	KG	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
F16	32.506±0.126	KG	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1
F17	33.238±0.095	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F18	33.609±0.051	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1
F19	34.937±0.086	KRhG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
F20	34.720±0.00	QA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
F21	35.603±0.154	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F22	35.445±0.046	KG	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
F23	37.148±0.169	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F24	38.191±0.030	KRh	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
F25	37.198±0.096	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F26	38.577±0.236	KG	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
F27	38.874±0.00	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F28	40.004±0.120	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F29	40.074±0.00	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
F30	40.924±0.00	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
F31	48.528±0.057	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F32	50.385±0.161	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

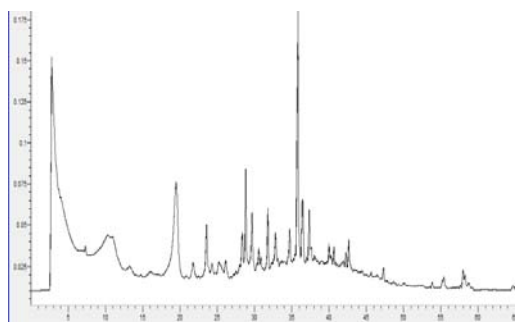
*: Media y desviación estándar; KG: canferol glicósido; QG: quercetina glicósido; K3,7OG: canferol-3,7-O-diglucosido; KACG: canferol-3-O-[6-acetilglucosido]-7-O-glucosido; KRhG: canferol-3-O-[ramnosil(1-6) glucosido]; QA: Quercetina-3-O-arabinosido; KRh: canferol-3-O-ramnosido. 1: Presente; 0: Ausente



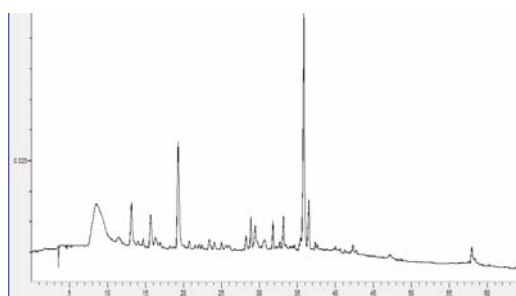
Individuo 500



Individuo 504



Individuo 505



Individuo 513

Figura 16- Cromatogramas de los perfiles fenólicos foliares de algunos individuos de *Agave durangensis* de la localidad de El Mezquital, obtenidos por HPLC/DAD.

Tabla 2.-Distribución individual de flavonoides foliares de *A. durangensis* de la localidad de El Mezquital.

Comp.	TR (min)*	Id. Q.	500	501	502	503	504	505	506	507	508	509	510	511	512	513	514	515	516	517	518	519	520	521	522
F1	18.227±0.093	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F2	18.865±0.00	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F3	19.598±0.035	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F4	22.489±0.042	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F5	23.326±0.089	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
F6	24.438±0.00	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F7	25.142±0.00	QG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F8	27.067±0.00	QG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F9	27.710±0.060	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F10	28.313±0.014	KG	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
F11	27.623±0.051	K3,7OG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F12	29.955±0.104	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F13	29.969±0.090	KAcG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F14	31.610±0.056	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F15	31.434±0.131	KG	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
F16	32.506±0.126	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
F17	33.238±0.095	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F18	33.609±0.051	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F19	34.937±0.086	KRh aG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F20	34.720±0.00	QA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F21	35.603±0.154	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F22	35.445±0.046	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F23	37.148±0.169	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F24	38.191±0.030	KRh	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F25	37.198±0.096	KG	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
F26	38.577±0.236	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F27	38.874±0.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F28	40.004±0.120	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F29	40.074±0.00	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F30	40.924±0.00	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F31	48.528±0.057	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F32	50.385±0.161	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*: Media y desviación estándar; KG: canferol glicósido; QG: quercetina glicósido; K3,7OG: canferol-3,7-O-diglucosido; KAcG: canferol-3-O-[6-acetilglucosido]-7-O-glucosido; KRhG: canferol-3-O-[ramnosil(1-6) glucósido]; QA: Quercetina-3-O-arabinosido; KRh: canferol-3-O-ramnosido. 1: Presente; 0: Ausente

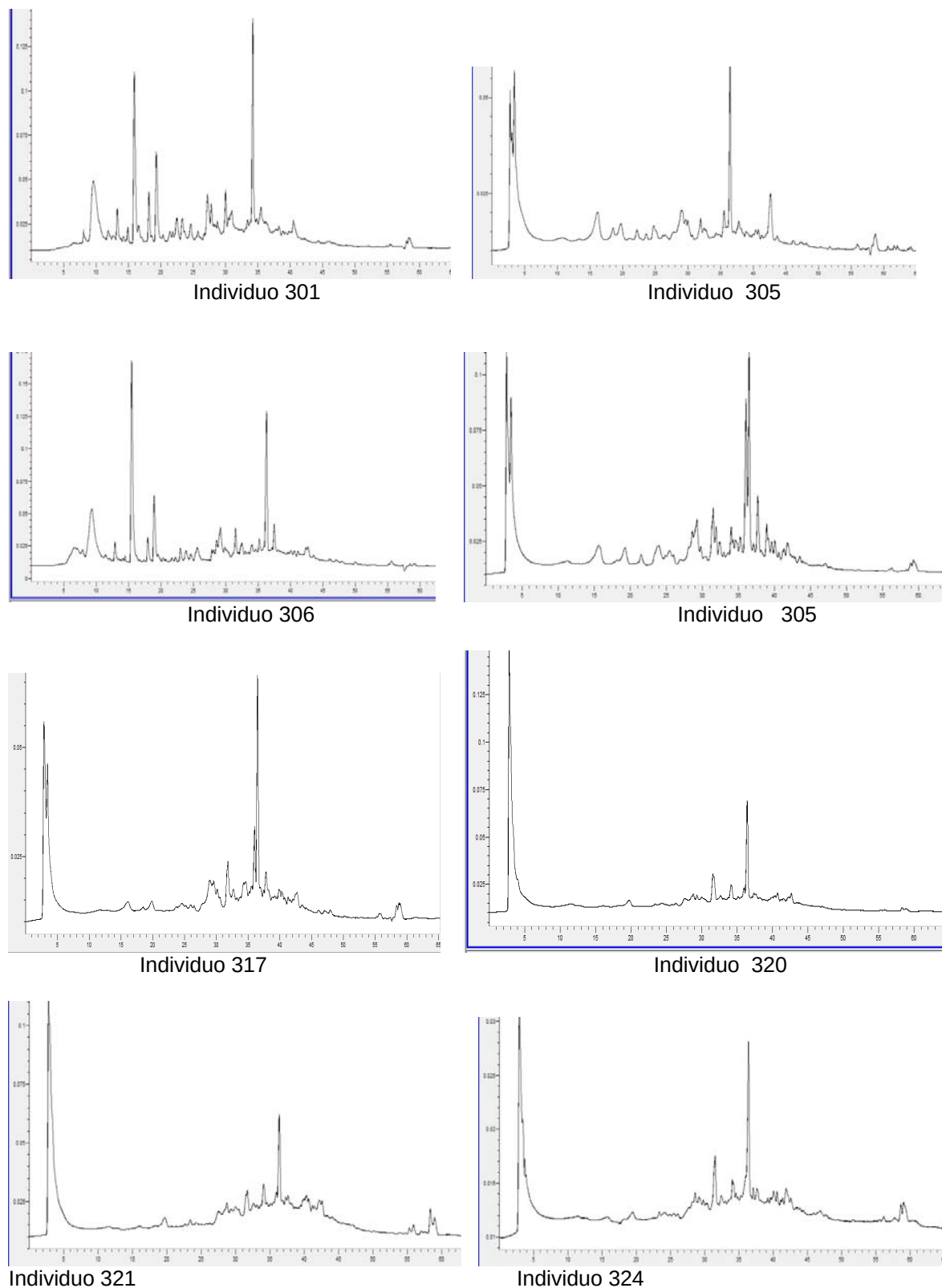


Figura 17.- Cromatogramas de los perfiles fenólicos foliares de algunos individuos de *Agave asperrima* de Cuencamé, obtenidos por HPLC/DAD.

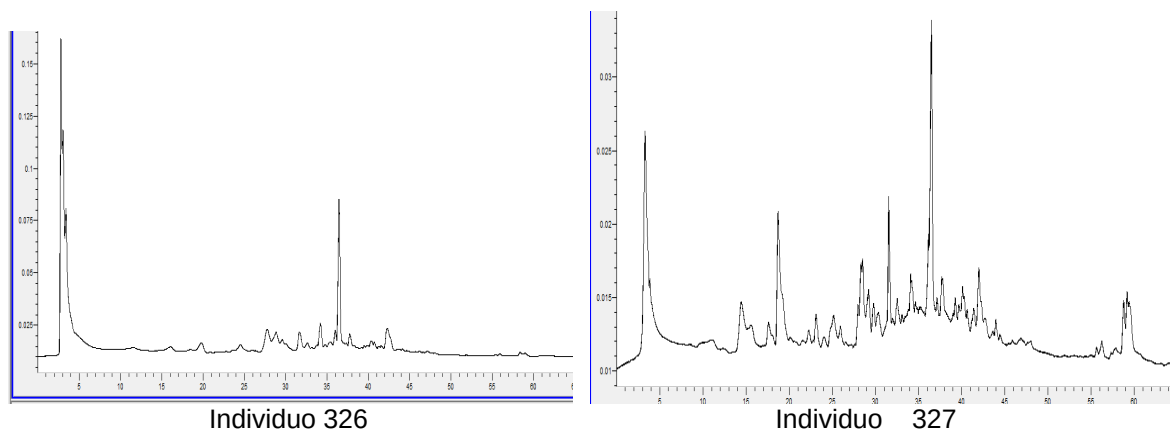


Figura 17.- (Continuación) Cromatogramas de los perfiles fenólicos foliares de algunos individuos de *Agave asperima* de Cuencamé, obtenidos por HPLC/DAD

Tabla 3.- Distribución individual de los flavonoides foliares de *Agave asperima*.

Comp.	FR (min)*	Id Quim	30																									
			1	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	313	314	315	317	319	320	321	322	323	324	325	326			
F1	18.227±0.093	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F2	18.865±0.00	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F3	19.598±0.035	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F4	22.489±0.042	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F5	23.326±0.089	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F6	24.438±0.00	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F7	25.142±0.00	QG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F8	27.067±0.00	QG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F9	27.710±0.060	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F10	28.313±0.014	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F11	27.623±0.051	K3, 7OG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F12	29.955±0.104	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F13	29.969±0.090	KA cG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F14	31.610±0.056	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F15	31.434±0.131	KG	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
F16	32.506±0.126	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F17	33.238±0.095	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F18	33.609±0.051	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F19	34.937±0.086	KRhG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F20	34.720±0.00	QA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F21	35.603±0.154	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F22	35.445±0.046	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F23	37.148±0.169	KG	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1			
F24	38.191±0.030	KRh	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F25	37.198±0.096	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F26	38.577±0.236	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F27	38.874±0.00	KG	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F28	40.004±0.120	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F29	40.074±0.00	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F30	40.924±0.00	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F31	48.528±0.057	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
F32	50.385±0.161	KG	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			

*: Media y desviación estándar; KG: canferol glicósido; QG: quercetina glicósido; K3,7OG: canferol-3,7-O-diglucosido; KAcG: canferol-3-O-[6-acetilglucosido]-7-O-glucosido; KRhG: canferol-3-O-[ramnosil(1-6) glucosido]; QA: Quercetina-3-O-arabinosido; KRh: canferol-3-O-ramnosido. 1: Presente; 0: Ausente

Los individuos de la serie 200, de la localidad Tipo de *Agave durangensis* fueron los que presentaron los perfiles fenólicos foliares más complejos, con hasta 23 flavonoides. Esos patrones son contrastantes con los de los individuos de la serie 500, identificados con una base morfológica como *Agave durangensis*, pero del municipio de Mezquital, en los que se encontraron perfiles fenólicos menos complejos, con hasta cinco derivados glicósidos de canferol, y a diferencia de los individuos de la localidad de Sierra de Registro, no se detectó ningún derivado glicósido de quercetina, el cual es uno de los flavonoles más ampliamente distribuidos dentro del reino vegetal (Formica y Regelson, 1995). Ha sido sugerido

que la síntesis y acumulación de compuestos secundarios pueden ser inducidas por ataques de herbívoros o patógenos (Del Amo, *et al*, 1986), esto podría explicar la presencia de derivados glicósidos de quercetina en pocos individuos (tres) de *Agave durangensis* de la localidad de Sierra de Registro. Sin embargo, esos tres individuos (203, 225 y 228) no presentaban mayor daño aparente en la superficie foliar que cualquiera de los individuos de la población de El Mezquital (Figuras 18, 19, 20 y 21). Los perfiles fenólicos foliares de *Agave asperrima* fueron los menos complejos, con únicamente tres diferentes derivados glicósidos de canferol.

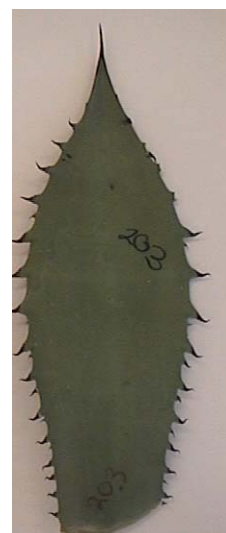


Figura 18.- Individuo 203 de la población de Sierra de Registro y muestra de hoja.



Figura 19.- Individuo 225 de la población de Sierra de Registro y muestra de hoja.



Figura 20.- Individuo 228 de la población de Sierra de Registro y muestra de hoja.



Figura 21.- Individuo 523 de la población de El Mezquital y muestra de hoja.

Reportes previos sobre los compuestos fenólicos de una de las pocas especies de *Agave* que han sido estudiadas por su composición fenólica, *Agave americana*, también informan sobre la presencia de derivados glicósidos de canferol como componentes fenólicos, pero en tejidos reproductivos (Subramanian y Nair, 1970).

A diferencia de lo reportado para otras especies de plantas, en las que se han encontrado flavonas, flavanonas, e isoflavonoides además de flavonoles (Grayer *et al*, 1989; Almaraz, *et al*, 2006) en los de *Agave durangensis* y *Agave asperrima* dominan esos últimos.

6. 2 Implicaciones taxonómicas de la composición fenólica foliar

Una alta variabilidad fue encontrada entre los perfiles fenólicos individuales de la población de *Agave durangensis* de Sierra de Registro. Los perfiles variaron desde tres compuestos en cuatro individuos (200, 201, 206 y 232) hasta nueve en el individuo 230 (Tabla 3). Tres individuos (200, 201 y 206) compartieron un mismo perfil, y dos más (211 y 221) compartieron también un mismo perfil pero diferente al de 200, 201 y 206, el resto, 18 individuos, que representan aproximadamente el 78 %, tuvieron cada uno un perfil fenólico único. En esta población por lo tanto se detectaron 20 diferentes perfiles fenólicos foliares.

La homogeneidad en los perfiles fenólicos foliares de *Agave durangensis* de la localidad de Mezquital, que variaron de 3 compuestos en 19 individuos, todos ellos compartiendo el mismo perfil, hasta 4 compuestos en cuatro individuos (512, 514, 516 y 519), de los cuales 512 y 514 tuvieron el mismo perfil, y 516 y 519 tuvieron, a su vez el mismo perfil, pero diferente al de 512 y 514, representa un fuerte contraste con la alta variabilidad encontrada para la población de Sierra de Registro. A diferencia de la población de Sierra de Registro, en la de El Mezquital, únicamente tres diferentes perfiles fenólicos foliares fueron detectados (Tabla 4).

Asumida como *Agave durangensis*, los individuos de El Mezquital son en promedio más altos (101.3 ± 38.717 cm) que los individuos de Sierra de Registro (78.25 ± 23.686 cm) y tienen hojas más largas (73.7 ± 26.765 cm y 54.795 ± 16.130 cm, respectivamente), con similar anchura en la parte media de la hoja (19.2 ± 4.134 cm y 18.3 ± 4.401 cm, respectivamente) y similar longitud de espina terminal (4.5 ± 1.08 y 4.2 ± 1.10 cm, respectivamente). Ambas poblaciones, Sierra de Registro y El Mezquital, están separadas una de la otra por aproximadamente 50 Km, cada una con condiciones ambientales diferentes. Esto podría explicar los dos tipos de perfiles encontrados en una y otra población, ya que se considera que la biosíntesis y acumulación de los metabolitos secundarios dependen de procesos altamente regulados, que responden, entre otros factores, a controles ambientales específicos (Hadacek, 2002). Sin embargo, se ha reportado que las enzimas que catalizan las reacciones de modificación de los flavonoides generalmente exhiben una alta especificidad de sustrato, lo que implica que

muchas reacciones proceden en un orden secuencial definido, que parece ser específico para cada especie de planta (Heller y Forkmann, 1994).

Los perfiles fenólicos de *Agave asperrima* (muestras 300 a 326) fueron los más sencillos, estuvieron formados solamente por uno o dos, de entre tres derivados glicósidos de canferol. Once individuos mostraron un perfil formado únicamente por un flavonol (compuesto F15) y 12 individuos tuvieron un perfil formado por dos de esos compuestos. Dentro de los perfiles formados por dos flavonoles, los individuos 303 y 305 compartieron un mismo perfil, constituido por los compuestos F15 y F27, mientras que los individuos 304, 309, 314, 315, 320, 321, 322, 324, 325 y 326 compartieron un perfil diferente también formado por dos flavonoles, los compuestos F15 y F23. Para *Agave asperrima*, tres diferentes perfiles fenólicos foliares fueron detectados, siendo diferentes de los tres detectados para *Agave durangensis* de la localidad de El Mezquital (Tabla 4).

El derivado glicósido de canferol F15 estuvo presente en todos los individuos de *Agave durangensis* de la localidad de El Mezquital, en todos los individuos de *Agave asperrima*, y en 21 individuos (aproximadamente el 91%) de *Agave durangensis* de la población de Sierra de Registro. Esto sugiere que la ruta metabólica para su biosíntesis pudiera estar ampliamente distribuida en esas taxa, sin embargo su posible consideración como un marcador subgenérico o incluso genérico requeriría estudios fitoquímicos que incluyeran un mayor número de taxa y probablemente de mayor cantidad de individuos por taxa.

El compuesto F23, no fue detectado en ningún individuo de *Agave durangensis*, únicamente lo fue en 10 individuos (aproximadamente el 43 %) de *Agave asperrima*, lo que aparentemente podría restarle valor como marcador específico. Sin embargo, Harborne y Turner (1984) hacen referencia a que los perfiles como tales y no los compuestos individuales son los caracteres que tienen importancia quimiotaxonómica.

A pesar de la variabilidad intrapoblacional de los perfiles fenólicos foliares de los tres grupos estudiados, perfiles “Tipo” para cada uno de ellos pudieron ser reconocidos. Se presentan dichos perfiles en la Tabla 6.

El análisis de componentes principales de los resultados de la composición fenólica foliar de todos los individuos de *Agave* analizados claramente agrupa a todos los individuos de *Agave asperrima* en un grupo muy compacto y separado de los individuos de *Agave durangensis* de la población de El Mezquital, que forma otro grupo definido, y de los individuos de esta misma especie pero de la localidad de Sierra de Registro. El análisis permitió distinguir tres subgrupos en esa última localidad (Figura 22).

El análisis de CP indica que cada uno de los tres grupos de plantas analizadas puede distinguirse uno de otro por un perfil único de flavonoides foliares y sugiere que esos perfiles tienden a ser especie-específicos, lo que les da importancia como caracteres útiles para definir y discriminar entre especies de *Agave*. Las figuras 23 y 24, resultado del análisis de CP comparando únicamente los perfiles fenólicos foliares de los individuos de la población de *Agave durangensis* de Sierra de Registro y los individuos de *Agave asperrima*, y por otro lado, comparando la población de *Agave durangensis* de la localidad de El Mezquital con los de *Agave asperrima*, respectivamente, sugieren que esos perfiles pueden ser valiosos como marcadores específicos.

Tabla 4.- Perfiles tipo de *Agave durangensis* de Sierra de Registro, presunto *Agave durangensis* de El Mezquital, y *Agave asperima*.

<i>Agave durangensis</i> de Sierra de Registro	<i>Agave durangensis</i> de El Mezquital	<i>Agave asperima</i>
F1 +/-	F5 +/-	F15 +
F2 +/-	F10 +	F23 +/-
F3 +/-	F15 +	F27 +/-
F4 +/-	F16 +/-	
F5 +/-	F25 +	
F6 +/-		
F7 +/-		
F8 +/-		
F9 +/-		
F10 +/-		
F11 +/-		
F13 +/-		
F15 +/-		
F16 +/-		
F18 +/-		
F19 +/-		
F20 +/-		
F22 +/-		
F24 +/-		
F25 +/-		
F26 +/-		
F29 +/-		
F30 +/-		

+: presente en todos los individuos analizados

+/-: presente en solo algunos de los individuos analizados

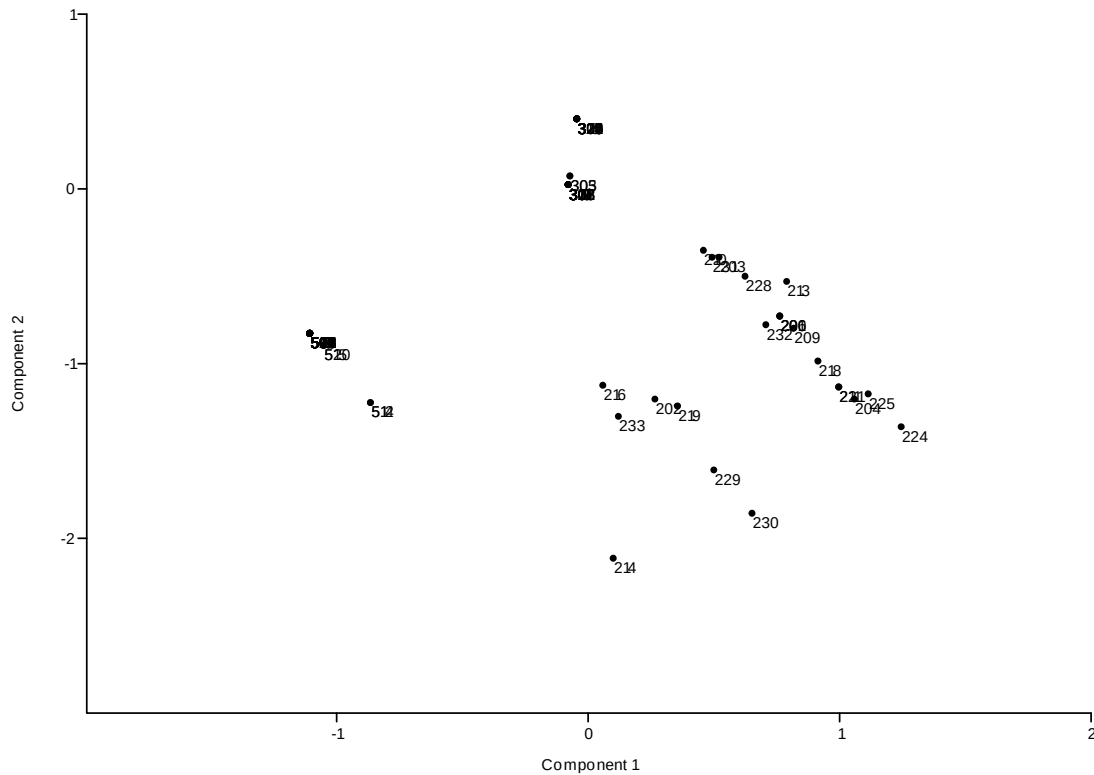
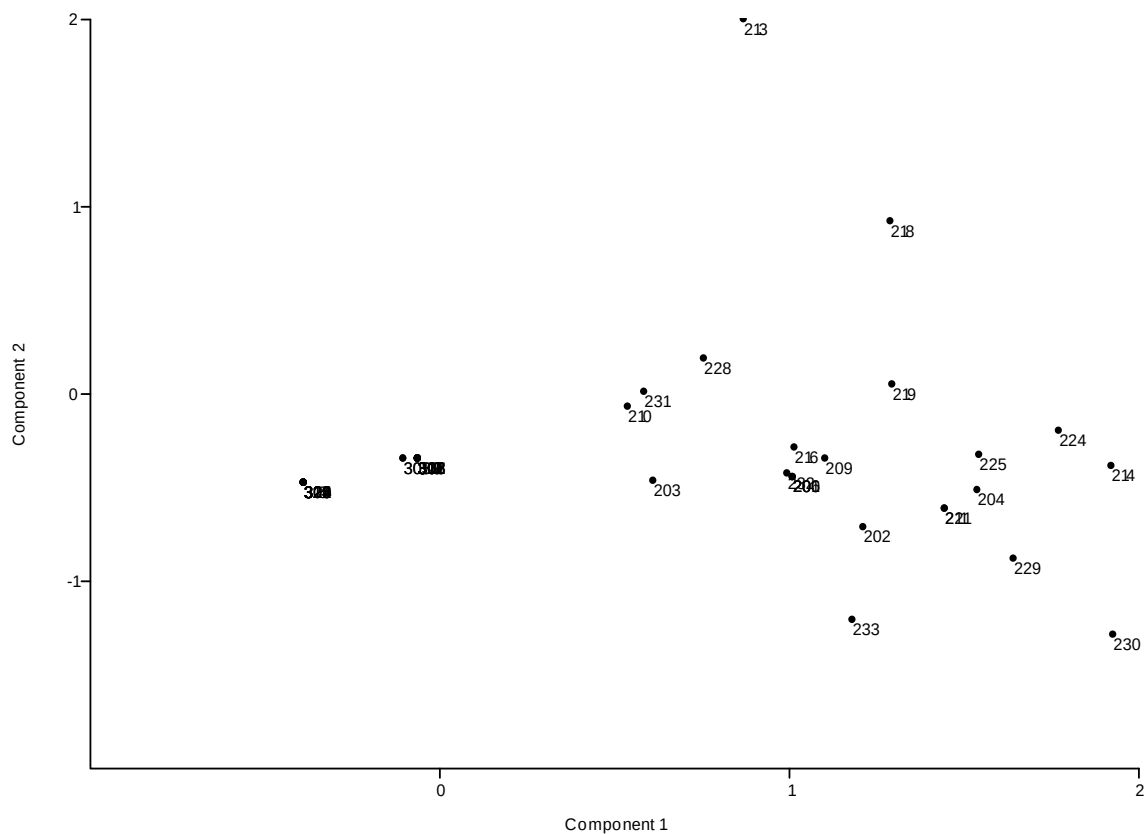


Figura 22.- Resultados de la comparación de los perfiles fenólicos foliares de los individuos de *Agave durangensis* de la Sierra de Registro (serie 200), de El Mezquital (serie 500) y de *Agave asperrima* de Cuencamé (serie 300), por medio del análisis de componentes principales.



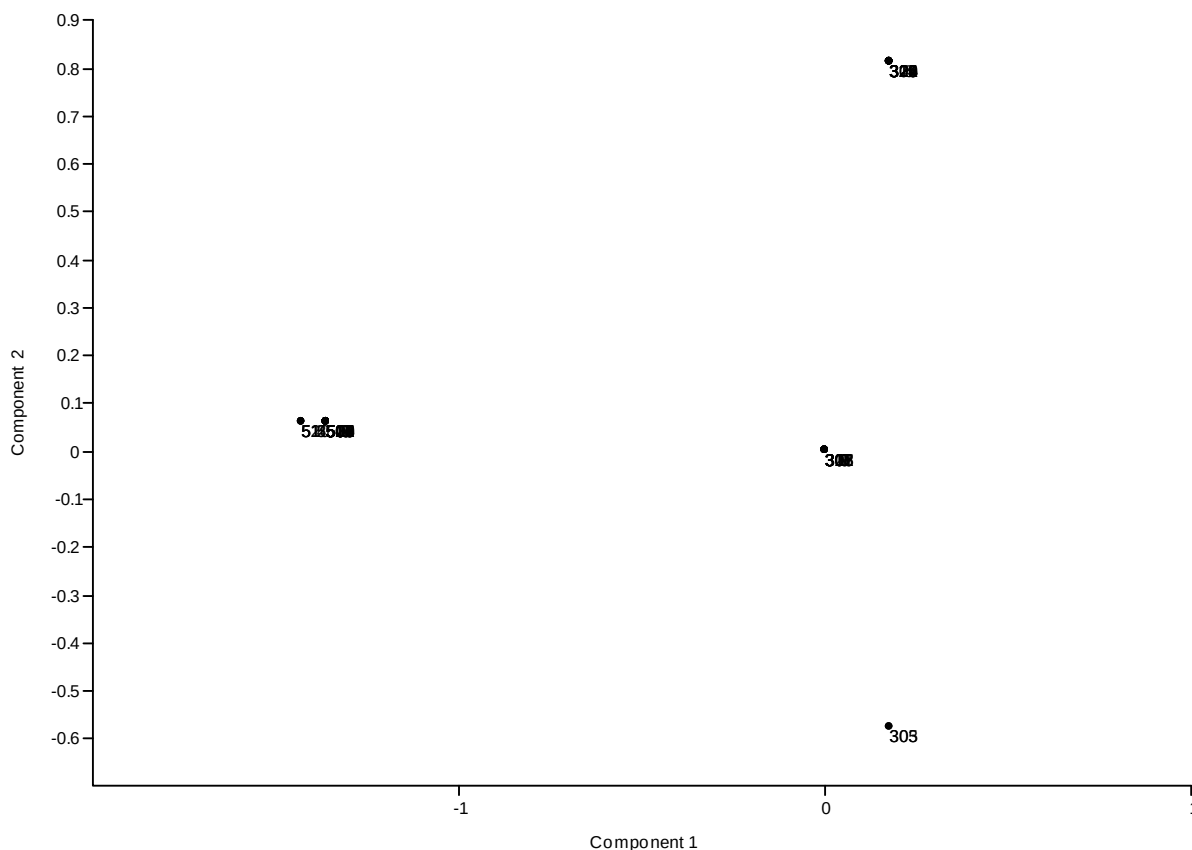


Figura 24.- Resultados de la comparación de los perfiles fenólicos foliares de los individuos de *Agave durangensis* de El Mezquital (serie 500) y de *Agave asperrima* de Cuencamé (serie 300), por medio del análisis de componentes principales.

La comparación de los perfiles fenólicos de los individuos de *Agave durangensis* de la localidad de Sierra de Registro y los de los individuos asumidos como la misma especie pero de la localidad de El Mezquital, por medio de CP, separa claramente a ambos grupos (Figura 25).

De acuerdo a Heller y Forkmann (1994) acerca de que la síntesis de compuestos flavonoides parece ser específica para cada especie de planta, y de acuerdo a los resultados del análisis de CP y las diferencias morfológicas encontradas, las dos poblaciones de *Agave durangensis* son diferentes a un grado tal que cada una podría representar un taxon independiente.

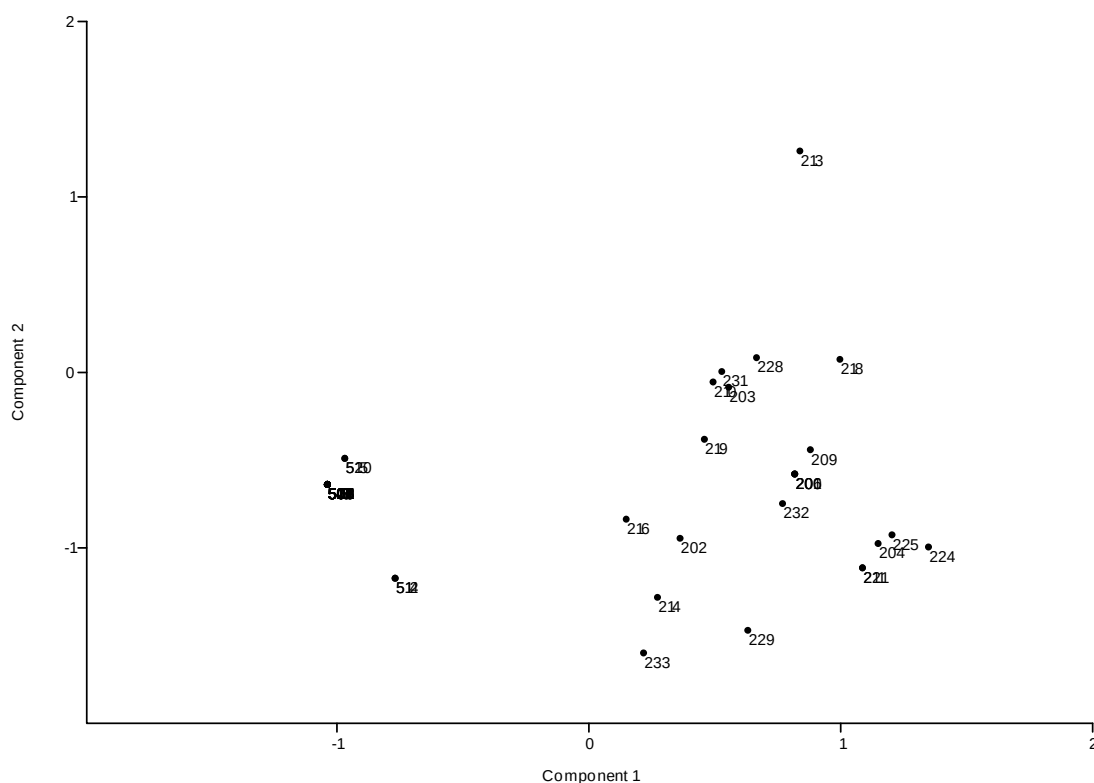


Figura 25.- Resultados de la comparación de los perfiles fenólicos foliares de los individuos de *Agave durangensis* de Sierra de Registro (serie 200) y de El Mezquital (serie 500), por medio del análisis de componentes principales.

González *et al*, (2009) reportan *A. wocomahi* y *A. shrevei*, como especies que crecen en el sur de Durango, donde se ubica el municipio de El Mezquital, las cuales, Al igual que *A. durangensis* pertenecen al grupo Ditepalae y tienen atributos morfológicos que podrían confundirse con los de esta especie. Los individuos analizados en este trabajo, muestreados en ese municipio, podrían pertenecer a alguna de esas especies, en las que de acuerdo a los mismos autores, también existen problemas de delimitación específica, como es el caso de *A. shrevei*, es un taxon en el cual se incluye plantas morfológicamente muy diferentes entre si; y en el caso de *A. wocomahi* dichos autores reconocen dos variantes muy diferentes entre sí.

VII. CONCLUSIONES

La composición fenólica foliar de *Agave durangensis* es rica en derivados glicósidos del flavonol canferol. Derivados de este flavonol fueron dominantes en los tres taxa analizados en este estudio.

Agave durangensis de la localidad de Sierra de Registro, *Agave durangensis* de la localidad de El Mezquital, y *Agave asperrima* pudieron ser distinguidos por sus componentes fenólicos foliares, de tal manera que se puede reconocer una tendencia especie-específica de los mismos, lo que indica que estos caracteres químicos pueden ser valiosos para la discriminación entre especies del género *Agave*.

La variabilidad intrapoblacional en los perfiles fenólicos de las tres poblaciones analizadas pudo ser visualizada a partir del análisis de HPLC/DAD, encontrándose el mayor nivel en *Agave durangensis* de Sierra de Registro, población en la que tres subgrupos o quimiotipos pudieron ser detectados.

A pesar de la alta variabilidad intrapoblacional detectada dentro de la población de *Agave durangensis* de Sierra de Registro, la presencia de componentes flavonoides específicos en las hojas de los individuos de esa población, diferentes a los de la población de El Mezquital, asociada a las diferencias morfológicas encontradas entre ellas, sugiere la existencia de dos entidades taxonómicas independientes en una y otra población, dentro de ese grupo morfológicamente variable.

VIII. RECOMENDACIONES

Considerando los resultados obtenidos en este trabajo donde fue posible detectar una considerable variabilidad intrapoblacional mediante los derivados glicósidos de flavonoles, sería importante continuar con los análisis y detección de compuestos fenólicos dentro de otras poblaciones de *Agave durangensis* para monitorear el estado de las poblaciones, como elemento diagnóstico del recurso y de esa forma conocer su viabilidad de uso.

Además tomando en cuenta la cantidad de compuestos fenólicos encontrados de esta especie en particular y su naturaleza química sería conveniente que se iniciaran investigaciones sobre su extracción y recuperación para revisar su potencial como fuentes de sustancias bactericidas, fungicidas e incluso colorantes de bajo costo.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almaraz, A. N. 1984. Estudio Etnobotánico de los Agaves del Altiplano Potosino, Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala UNAM Tesis.

Almaraz-Abarca, N., J. A. Ávila-Reyes, J. Herrera-Corral, N. Naranjo-Jiménez, L. S. González-Valdez y R. González-Laredo 1998. The feeding deterrent affect of a flavonol and a flavanone on the Mexican bean beetle (*Epilachna varivestis* Mulsant). *Ubamari* 44: 33-42.

Almaraz-Abarca, N., M.G. Campos, J. A. Ávila-Reyes, N. Naranjo-Jiménez, J. Herrera-Corral, L. S. González-Valdez 2004. Variability of antioxidant activity among honeybee-collected pollen of different botanical origin. *Interciencia* 29: 574-578.

Almaraz-Abarca, N., M. S. González-Elizondo, J. A. Tena-Flores; J. A. Ávila-Reyes, N. Naranjo-Jiménez, J. Herrera-Corral 2006. Foliar flavonoids distinguís *Pinus leiophylla* and *Pinus chihuahuana* (Coniferales: Pinaceae). *Proceedings of the Biological Society of Washington* 119:426-436.

Almaraz-Abarca, N., M. G. Campos, J. A. Ávila-Reyes, N. Naranjo-Jiménez, J. Herrera-Corral & L. S. González-Valdez (2007). Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae). *Journal of Food Composition and Analysis* 20: 119-124.

Almaraz-Abarca, N., M. G. Campos, E. A. Delgado-Alvarado, J. A. Ávila-Reyes, J. Herrera-Corral, L. S. González-Valdez, N. Naranjo-Jiménez, C. Frigerio, A. F. Tomatas, A. J. Almeida, A. Vieira, J. N. Uribe-Soto 2008. Pollen flavonoid/phenolic acid composition of four species of Cactaceae and its taxonomic significance. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 3: 534-543.

Bate-Smith, E. C., I. K. Ferguson, K. Hutson, S. R. Jensen, B. J. Nielsen, T. Swain 1975. Phytochemical interrelationships in the Cornaceae. *Biochemical Systematics and Ecology* 3: 79-89.

Blunden, G., Y. Yi and K. Jewer 1978. Steroidal sapogenins from leaves of *Agaveae* species. *Phytochemistry* 17: 1923-1925

Bohm, B. A. 1994. The minor flavonoids. In: *The Flavonoids. Advances in Research since 1986* (Ed. Harborne J. B.). London, Chapman & Hall, pp. 387-440.

Burger, J., G. E. Edwards 1996. Photosynthetic efficiency, and photodamage by UV and visible radiation, in red versus green leaf *Coleus* varieties. *Plant and Cell Physiology* 37: 395-399

Campos, M.G. 1997. *Caracterização do pólen apícola pelo seu perfil em compostos fenólicos e pesquisa de algumas actividades biológicas*. Dissertação de candidatura au grau de Doutor. Portugal: Universidade de Coimbra.

Campos, M. G., K. R. Markham, A. Proença da Cunha 1997. Quality assessment of bee-pollens using flavonoid/phenolic profiles. *Polyphenol Communications* 96: 53-54.

Campos, M. G., K. R. Markham 2007. Structure information from HPLC and on-line measured absorption spectra—Flavone, Flavonols and Phenolic Acids. Ed. Imprensa da Universidade de Coimbra. Portugal.

Del Amo, R. S., J. G. Ramírez, O. Espejo 1986. Variation of some secondary metabolites in juvenile stages of three plant species from tropical rain forest. *Journal of Chemical Ecology* 12: 2021-2028.

Del Pero, M. M. A., J. P. Pelotto, N. Basualdo 1997. Distribution of flavonoid aglycones in *Ilex* Species (*A. quifoliaceae*). *Biochemical Systematics and Ecology* 25: 619-622

Dewick, P. M. 1994. In: J.B. Harborne, Editor, *The Flavonoids – Advances in Research Since*, Springer, New York, pp. 117.

Elliger, C. A., B. G. Chan, A. C Waiss Jr., R. E. Lundin, and W. F. Haddon 1980. C-Glycosylflavones from *Zea mays* that inhibit insect development. *Phytochemistry* 19: 293–297

Ervin G. N., R. G. Wetzel 2000. Allelochemical autotoxicity in the emergent wetland macrophyte *Juncus effuses* (Juncaceae). American Journal of Botany 87:853–860

Forkmann, G. 1994. Genetics of flavonoids. In: The Flavonoids, Advances in Research since 1986. (Ed. Harborne, J.B.). Chapman and Hall, London, pp: 537-564.

Formica, J. V., W. Regelson 1995. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. Food and Chemical Toxicology 33: 1061-1080

Foo, L. Y., Y. Lu, W. C. McNabb, G. Waghorn, M. J. Ulyatt 1997. Proanthocyanidins from *Lotus pedunculatus*. Phytochemistry 45:1689.

Fukai, T., C. B. Shen, T. Horikoshi, T. Nomura 1996. Isoprenilated flavonoids from underground parts of *Glycyrrhiza glabra*. Phytochemistry, 43: 1119-1124.

García-Mendoza, A. 1995. Riqueza y endemismos de la familia Agavaceae en México. En: Conservación de Plantas en Peligro de Extinción: Diferentes Enfoques (Eds. Linares, E., P. Dávila, F. Ching, R. Bye, T. Elias). UNAM. México, pp. 51-75.

García-Mendoza, A., V. R. Galván 1995. Riqueza de las familias Agaveceas y Nolinaceas en México. Boletín de la Sociedad Botánica de México 56: 7-24.

García-Mendoza, A. 2007. Los agaves de México. Ciencias 87: 14-23

Galván V. R., E. M. González 1991. Notas sobre el Genero *Agave* en el estado de Durango. Cactáceas y Suculentas Mexicanas 36: 3-7

Gentry H. S. 1982. Agaves of Continental North America, The University Arizona Press, Tucson Arizona.

González-Elizondo, M. y R. Galván-Villanueva 1992. El Maguey (*Agave* spp.) y los Tepehuanes de Durango. Cactáceas y Suculentas Mexicanas 37: 3-11

González-Elizondo, M., R. Galván-Villanueva, I. L. López-Enriquez, L. Reséndiz-Rojas y M.S. González-Elizondo 2009. Agaves -magueyes, lechuguillas y noas- del Estado de Durango y sus alrededores. CIIDIR Unidad Durango Instituto Politécnico Nacional-CONABIO. Durango, Dgo. 163 pp.

Good-Avila, S. V., V. Sousa, B. S. Gaut, E. L. Eguiarte 2006. Timing and rate of speciation in *Agave* (Agavaceae) Proceedings of the National Academy of Sciences 103: 9124-9129.

Grayer, R. J., S. E. Bryan, N. C. Veitch, F. J. Goldstone, A. Paton, E. Wollenweber 1996. External flavones in sweet basil, *Ocimum basilicum* and related taxa. Phytochemistry 43: 1041-1047.

Hadacek, F. 2002. Secondary metabolites as plant traits: current assessment and future perspectives. Critical Reviews in Plant Science 21: 273-322.

Harborne, J. B. 1989. General procedures and measurement of total phenolics. In: Methods in Plant Biochemistry (Eds. Deay, P.M., Harborne J.B.). Vol 1. Academic Press. London, pp. 1-27.

Harborne, J. 1993. Introduction to Ecological Biochemistry. San Diego Academic Press, London.

Harborne, J. B., B. L. Turner 1984. Plant Chemosystematics. London Orlando Academic Press

Heller W., G. Forkmann 1994. Biosynthesis of Flavonoids. In: The Flavonoids, Advances in Research since 1986. (Ed. Harborne, J.B.). Chapman and Hall, London, pp: 500-535.

Illsley, G.C. 2007. Biodiversidad, campesinos y la tradición mezcalera, Grupo de estudios Ambientales Asociación Civil.
<http://www.coinbio.com/docs/Articulos/Mezcal.pdf>

<http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/espanol/sistemas/cem03/estatal/dgo/m014/index.htm>

Jay M. 1994. C-Glycosylflavonoids. In: The Flavonoids, Advances in Research since 1986. (Ed. Harborne, J.B). Chapman and Hall. London, pp: 57-93.

Kutchan, T.M. 2001. Ecological arsenal and developmental dispatcher. The paradigm of secondary metabolism. Plant Physiology 125: 58-60.

Markham, K. R. 1982. Techniques of flavonoid identification. Academic Press. London.

Mol, J., E. Grotewold, R. Koes 1998 How genes paint flowers and seeds. Trend in Plants Science, 3: 212-217.

Montiel, L. M., 2000. Introducción a la flora de Costa Rica. 3ª. Edición Editorial de la Universidad de Costa Rica. San José.

Morales, M. A., 1972. Steroidal sapogenins from *Agave cocui*. Phytochemistry, 1: 1191-1192.

Nielsen, E. T., O. K. Walker, S.W. Miller, T. T. L. Semones, B.D Clinton 1999. Inhibition of seedling survival under *Rhododendron maximum* (Ericaceae): Could allelopathy be a cause? American journal of Botany 86: 1597-1605.

Novák, K., P. V. Chovanec, M. Skrdleta, M. Kropáčová, L. Lisá, M. Némecová 2002. Effect of exogenous flavonoids on nodulation of pea (*Pisum sativum* L.). Journal of Experimental Botany 53: 1735-1745.

Palma, C. F. J. 2000. Agaves Productores de Fibras Duras en el estado de Oaxaca, México. Boletín de la Sociedad Botánica de México 66: 93-102.

Parmar, V. S., H. N. Jha, A.K. Gupta, A.K, Prasad 1992. Agamanona, a flavanona from *Agave americana*. Phytochemistry 31: 2567-2568.

Parsons, R. J., A. J. Darling 2000. Maguey (*Agave* spp.) Utilization in Mesoamerican civilitation: a case for precolombian "pastorilism". Boletín de la Sociedad Botánica de México 66: 81-91.

Pardo, O. 2007. El Agave (*Agave americana* L.) en las culturas prehispánicas: una revisión bibliográfica. *Chloris Chilensis*, Revista Chilena de Flora y vegetación Año 10, Num. 1. <http://www.chlorischile.cl/pardoagave2/Agaveamericana2007.htm>

Peck, M. C., R. F. Fisher, S. R. Long 2006. Diverse flavonoids stimulate NodD1 binding to *nod* gene promoters in *Sinorhizobium meliloti*. *Journal of Bacteriology* 188: 5417-5427

Peters N. K., S. R. Long 1988. Alfalfa root exudates and compounds which promote or inhibit induction of *Rhizobium meliloti* nodulation genes. *Plant Physiology* 88: 396-400.

Poulton, J. E. 1990. Cyanogenesis in plants. *Plant Physiology* 94:401-405.

Ramos, G., P. Frutos, F. J. Giráldez, A. R. Mantecón 1998. Los compuestos secundarios de las plantas en la nutrición de los herbívoros. *Archivos de Zootecnia* 47: 597-620.

Rocha, M., S. V. Good-Avila, F. Molina-Freaner, H. T. Arita, A. Castillo, A. García-Mendoza, A. Silva-Montellano, B. S. Gaut, V. Souza y L. E. Eguiarte 2006. Pollination biology and adaptive radiation of Agavaceae, with special emphasis on the genus *Agave*. *Aliso* 22 : 327-342.

Stafford H. 1997. Roles of flavonoids in symbiotic and defense functions in legumes roots. *The Botanical Review* 63: 27-39.

Subramanian, S. S., A. G. R. Nair 1970. Chlorogenein and kaempferol glycosides from the flowers of *Agave americana*. *Phytochemistry* 9: 2582.

Taiz, L., Zeiger, E., 2006. *Plant Physiology*. 4th Edition. Sunderland, Mass. Sinauer Associates Inc., Publishers. Benjamin Cumings. California

Tinto, W. F., B J. L. Sommons, S. McLean, W. F. Reynolds 2005. Constituents of *Agave Americana* and *Agave barbadensis*. *Fitoterapia* 76: 594-597.

Uniyal, G. C., P. K. Agrawal, O. P. Sati, R.S. Thaker 1991. Agaveside C, a steroidal glycoside from *Agave cantala*. *Phytochemistry* 30: 1336-1339.

Valenzuela-Ruiz, R. F. J., G. O. H. Velasco, L. M. A. Márquez 2003. Desarrollo Sustentable del *Agave mezcalero* en Durango. SEP, CIIDIR-IPN-Dgo., SAGDR. México.

Valenzuela-Zapata, A. G. 2007. Las denominaciones de origen Tequila y Mezcal y la biodiversidad en el género *Agave* sp. Conferencia dictada en el Seminário "Biodiversidade e Denominações de Origem: Uma problemática global", en la Escola Superior Agrária de Coimbra (ESAC), el día 18 de Abril de 2007, en Coimbra, Portugal.

Varella, A. C. 2006. Das medicinas que embriagam: Bebidas alcoólicas indígenas nas crônicas de Sahagún e Guaman Poma; Campinas 7, 9-21 *Anais Eletrônicos do VII Encontro Internacional da ANPHLAC, A Associação Nacional de Pesquisadores e Professores de História Das Américas*. <http://www.anphlac.org/periodicos/anais/encontro7.pdf>

Wilkomirski, B., Bobeyko V. A., Kintia, P. K. 1975. New steroidal saponins of *Agave americana*. *Phytochemistry* 14: 2657-2659.