



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

27
2es

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO QUIMICO COMPARADO DE CUATRO ESPECIES DE CUSCUTA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE BIOLOGO PRESENTA: ROCIO BERNAL BASAVILBAZO



MEXICO, D. F.



1995

FALLA DE ORIGEN

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. EN C. VIRGINIA ABRIN BATULE
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Facultad de Ciencias
Presente

Los abajo firmantes, comunicamos a Usted, que habiendo revisado el trabajo de Tesis que realiz(ó)ron la pasante(s) BERNAL BASAVILBAZO ROCIO

con número de cuenta 8431176-2 con el Título: ESTUDIO QUIMICO COMPARADO DE CUATRO ESPECIES DE CUSCUTA

Otorgamos nuestro **Voto Aprobatorio** y consideramos que a la brevedad deberá presentar su Examen Profesional para obtener el título de BIÓLOGA

GRADO	NOMBRE(S)	APELLIDOS COMPLETOS	FIRMA
Dra.	MARIA CRISTINA PEREZ-AMADOR	BARRON	<i>[Firma]</i>
Director de Tesis	Quim.	AIDA NELLY GARCIA ARGAEZ	<i>[Firma]</i>
Dra.	PATRICIA GUEVARA	FEFFER	<i>[Firma]</i>
Biol.	JOSEFINA HERRERA SANTOYO		<i>[Firma]</i>
Suplente	Biol.	GARMEN CRISTINA ADRIANO MCRAN	<i>[Firma]</i>
Suplente			

**TODO LES PARECE IMPOSIBLE A QUIENES NO INTENTAN
NADA...**

SI TRATAS DE ALCANZAR LAS ESTRELLAS CON LAS MANOS

TAL VEZ NO OBTENGAS NINGUNA PERO AL MENOS

TAMPOCO TE LLENARAS LAS MANOS DE LODO...

CON TODO MI AMOR

A MIS PADRES Y MIS HERMANOS

Y A TODOS AQUELLOS QUE CREYERON QUE NUNCA LO LOGRARIA

AGRADECIMIENTOS

Agradezco muy especialmente a la Dra. María Cristina Pérez-Amador Barrón por la atenta supervisión, su gran paciencia y sus consejos que hicieron posible la realización de esta tesis.

Agradezco también la valiosa colaboración del Dr. Lucio Arreola por aportar el material biológico.

Reitero mi agradecimiento a las siguientes personas que me supervisaron técnicamente en las diversas etapas del proyecto:

M. en C. Aida Nelly García Argáez

Dra. Patricia Guevara Fefer

Dr. Diego Amor Prats

Biól. Josefina Herrera Santoyo

Biól. Carmen Cristina Adriano Morán

Muy especialmente agradezco a la Maestra Aida Nelly por toda la ayuda que me brindó en todo momento.

Quiero extender mi agradecimiento a la Facultad de Ciencias (especialmente al personal del Laboratorio de Química) y a la UNAM por la formación y el apoyo que he recibido.

Gracias a mis padres y a mis hermanos por su apoyo, su amor y su comprensión a lo largo de todo mi desarrollo académico.

**Esta tesis se realizó en el Laboratorio de Química
de la Facultad de Ciencias, UNAM, bajo la dirección
de la Dra. María Cristina Pérez-Amador Barrón.**

TABLA DE CONTENIDO

1 INTRODUCCION	1
2 ANTECEDENTES BIOLOGICOS	6
2.1 Distribución del género	6
2.2 Ciclo Biológico	6
2.3 Parasitismo e importancia económica	8
2.4 Usos e investigaciones realizadas	11
3 ANTECEDENTES QUIMICOS	14
4 UBICACION TAXONOMICA	22
4.1 Clasificación del género	22
4.2 Descripción	23
4.3 División	24
4.4 Ubicación taxonómica de las especies estudiadas	26
4.5 Descripción de las especies estudiadas y su distribución	31
5 METODOLOGIA	37
5.1 Preparación del material biológico	37
5.2 Preparación de los extractos hexánicos y metanólicos	38
5.3 Determinación de grupos de metabolitos secundarios	38
5.4 Determinación de perfiles cromatográficos de alcaloides	40
5.5 Determinación de perfiles cromatográficos de resinas glicosídicas	42
5.6 Determinación de perfiles cromatográficos de glucósidos kauránicos	42
5.7 Determinación de perfiles cromatográficos de flavonoides	43
5.8 Separación de compuestos del extracto etanólico	45
6 RESULTADOS Y DISCUSION	48
7 TABLAS Y FIGURAS	55
8 CONCLUSIONES	87
9 APENDICE	88
10 BIBLIOGRAFIA	90

1 INTRODUCCION

México posee una gran variedad de plantas vasculares (aproximadamente 25,000 a 30,000) por lo que se vuelve una necesidad conocerlas, describirlas y clasificarlas, por lo cual el trabajo taxonómico es importante (Chiang, 1989). Las tareas de los taxónomos se vuelven frecuentemente complejas cuando las diferencias entre las especies son pequeñas. Es por eso que requieren de la información proporcionada por otras ramas de la ciencia (por ejemplo de la Química, la Citología o la Genética, entre otras), sumando a los caracteres morfológicos (ya sean macroscópicos o microscópicos) los de tipo submicroscópico, bioquímico, inmunológico, etc., para lograr una clasificación lo más exacta posible (De la Sota, 1967).

Las plantas producen una gran variedad de compuestos químicos que se han dividido en dos grupos: metabolitos primarios y metabolitos secundarios, en razón a su función (Gros et al., 1985).

Los metabolitos primarios son productos que participan en el metabolismo general y están ampliamente distribuidos en el mundo viviente, como las proteínas, los polisacáridos y los lípidos.

Los metabolitos secundarios (alcaloides, terpenos-esteroides y acetogeninas) son productos con función especial. Esta función es, en su mayor parte desconocida (Gros et al., 1985). Se sabe que están involucrados en la defensa contra depredadores y patógenos, en la atracción de polinizadores y en otros aspectos ecológicos (Taiz & Zeiger, 1990). Su distribución está restringida a ciertos organismos (Gros et al., 1985) por lo cual algunos de ellos son útiles como marcadores taxonómicos (por ejemplo, Hegnauer, en 1964, menciona que en las *Convolvulaceae* existen compuestos, como las resinas glicósidas y los alcaloides ergólicos que pudieran emplearse como marcadores taxonómicos, otro ejemplo es el de las betalainas que sólo se encuentran en el orden *Caryophyllales*, familia *Centrospermae*, Mabry en

Stuessy, 1990).

Debido a lo anterior, la utilización de los productos secundarios en la taxonomía, puede aportar información útil para apoyar la clasificación de las plantas y ayudar a resolver algunos problemas taxonómicos (Stuessy, 1990), estableciendo grados de similitud o diferencia entre grupos de vegetales cercanamente relacionados (Taiz & Zeiger, 1990).

La historia de la Química aplicada a la clasificación de las plantas puede remontarse indirectamente a la "Materia Médica" de Dioscórides (300 a.C.), cuando los herbalistas las agrupaban considerando sus propiedades medicinales, las cuales, obviamente, derivan de los compuestos químicos que contienen (Stuessy, 1990).

Uno de los primeros estudios donde se propuso la química para apoyar la clasificación fue el realizado por Abott en 1886 (en Stuessy, 1990), quien examinó la distribución de saponinas (triterpenoides o esteroidales) en plantas e hizo deducciones acerca de la aplicación de los datos químicos en estudios evolutivos

Greshoff, en 1909, pensó que los datos que aporta la química de las plantas son muy importantes y deberían incluirse en la descripción del taxón. Finalmente Hegnauer, en 1954, retoma estas ideas e introduce el término **Quimiotaxonomía**. A partir de esta década, la aplicación de datos químicos a los problemas taxonómicos se realizó en forma más directa y general (Stuessy, 1990).

A pesar de que en muchos grupos de plantas se ha profundizado en el estudio de los compuestos químicos que poseen, aún faltan muchas especies por estudiar, tal es el caso del género *Cuscuta*.

Dentro del género *Cuscuta* se agrupan plantas vasculares parásitas. Debido a este parasitismo, la ubicación taxonómica de estas plantas siempre ha sido motivo de controversia, a pesar de compartir algunas características morfológicas con la familia *Convolvulaceae*

(Barton, 1956).

El género además presenta un arreglo taxonómico complejo (Diagrama 1) y está dividido en 3 subgéneros, 8 secciones y 29 subsecciones, dentro de las cuales se ubican 158 especies (Yuncker, 1932).

De lo anterior se deriva el interés en estudiar los compuestos químicos de algunas especies del género *Cuscuta*, para que dicha información contribuya al conocimiento de los metabolitos secundarios presentes en ellas, con el fin de que los datos obtenidos puedan servir en la resolución de algunos de los problemas taxonómicos del género y de las especies estudiadas en particular.

OBJETIVOS

Por tal motivo, se ha planteado como objetivo general para este trabajo, realizar un estudio químico comparado de cuatro especies mexicanas de *Cuscuta* (*Cuscuta americana* Linnaeus, *C. arvensis* Beyrich, *C. corymbosa* var. *stylosa* Engelman y *C. tinctoria* Martius) para establecer similitudes o diferencias interespecíficas.

Los objetivos particulares establecidos son los siguientes:

- 1.- Determinar la presencia de grupos de metabolitos secundarios (alcaloides, terpenos y esteroides, flavonoides y glicósidos).
- 2.- Determinar la presencia de los 3 grupos de compuestos característicos de la familia *Convolvulaceae* (alcaloides, glicorresinas y glucósidos kauranólicos) mediante perfiles cromatográficos, así como de perfiles de flavonoides.
- 3.- Las determinaciones se harán con material colectado en época de lluvias y en época de sequía en tallos de las cuatro especies y en flores de *C. tinctoria*, debido a que las otras especies no estaban en floración cuando se hizo la colecta.

4.- Hacer una separación cromatográfica de un extracto etanólico, para buscar compuestos del grupo terpénico y esteroideal, así como flavonoides.

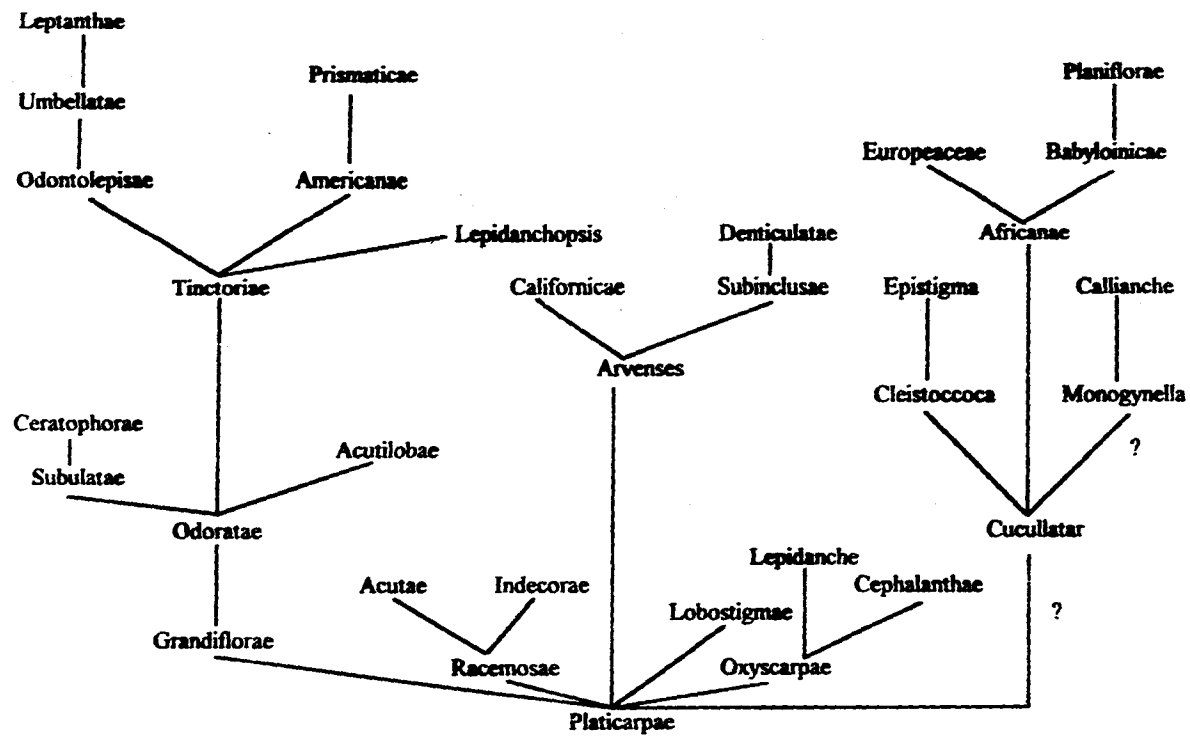


Diagrama 1 Posible filogénia de las subsecciones de *Cuscuta* (Yunker en 1932).

2 ANTECEDENTES BIOLÓGICOS

2.1 Distribución del género

El género *Cuscuta* comprende unas 158 especies ampliamente distribuidas a nivel mundial, tanto en regiones tropicales como templadas, la mayoría de las cuales se encuentran en América (aproximadamente 89), desde el sur de Canadá hasta Chile y Argentina. En Europa, Asia y África se localizan a partir del paralelo 60 N hasta Sudáfrica. En Australia y las islas de los océanos Índico y Pacífico se encuentran pocas especies (unas 16) y todavía no se han dado a conocer en las islas Filipinas (Yuncker, 1932).

México cuenta con una gran variedad de especies (cerca de 43) distribuidas a lo largo de todo el país, entre ellas se encuentran *Cuscuta americana*, *C. arvensis*, *C. corymbosa* (variedades *stylosa* y *grandiflora*), *C. tinctoria*, *C. umbellata*, *C. decipiens*, *C. veatchii*, *C. aurea*, *C. mexicana*, etc. (Yuncker, 1932).

2.2 Ciclo Biológico

El ciclo biológico de esta planta se compone de dos fases : la autotrófica y la heterotrófica. Durante la primera fase, la semilla germina en la tierra; las semillas requieren de un periodo de hibernación, el cual rompe la latencia, pues la testa tiende a endurecerse (Hutchinson & Floyd, 1979).

El tallo de la plántula posee una raíz muy reducida, éste circunmuda hasta hallar alguna planta, cuando esto ocurre el parásito se va enrollando, pierde la raíz y desarrolla haustorios; en ese momento comienza la fase heterotrófica (Stranburger, 1988). Los haustorios liberan enzimas degradadoras de la pared celular de tejidos hospederos, como la pectinesterasa, polilacturonasa, exo-1,4-β-D-glucosidasa, entre otras (Nagar, 1984).

La época de floración tiene lugar a finales de la primavera y principios del verano (Jauch,

1985). Las semillas pueden ser dispersadas por animales, agua y en los sitios de cultivo por equipo de labranza o bien, mezcladas con las semillas del cultivo infestado por esta planta (Agrios, 1978). El parásito se dispersa también, si algún tallo se rompe y se pone en contacto con alguna planta vecina (Walker, 1975)

Los adultos pueden resistir la sequía o hibernar cuando estos son de gran tamaño y por tanto, originan más tejido productor de semillas (Jauch, 1985).

Cuando los tallos de *Cuscuta* se secan, se vuelven de color atabacado y dejan las cicatrices de los haustorios sobre el hospedero (Jauch, 1985).

En los tallos de esta angiosperma se pueden encontrar larvas y pupas de Lepidópteros como *Nephoterix rubripasela* Rogonot, *Chorrera extrincica* Dyar, *Palatka nymphaelia* Hulst y *Caudelia apyrella* Dyar (Corrette & Neunzig, 1979); así como de Coleópteros del género *Smicronix* (Anderson, 1974).

Respecto al parasitismo de *Cuscuta* existe controversia en lo referente a si es un parásito parcial (hemiparásito) o vive totalmente a expensas de la planta hospedera (holoparásito), ya que Baccarini (1965 y 1966) y Dinelli en 1993, han encontrado clorofilas y capacidad de fotosíntesis en ambas etapas del ciclo vital, por lo tanto, según estos autores es un hemiparásito; por otra parte, otros investigadores consideran que se trata de un holoparásito que obtiene los aminoácidos, azúcares (principalmente sacarosa o desoxiglucosil-fructosido) y fosfatos del floema hospedero (Fer, 1981 y Steward en Wink & Witte, 1993), y el agua, calcio y otros elementos minerales del xilema (Fer, 1981).

2.3 Parasitismo e importancia económica

Parasitismo

El parasitismo de *Cuscuta* puede ser específico o casual, es decir, algunas especies presentan especificidad a determinados hospederos, por ejemplo, *C. indecora* y *C. planiflora* que principalmente invaden cultivos de alfalfa (*Medicago sativa*) (Jauch, 1985 y Agrios, 1978); *C. epilinum*, el lino, *C. epithymum* y *C. trifoli*, el trébol, etc. (Walker, 1975). En estos casos las semillas del parásito son muy similares a las del hospedero, por lo cual es muy difícil su erradicación (Agrios, 1978).

Otras especies, en cambio, parasitan una amplia gama de plantas de manera, aparentemente, indiscriminada, como *C. campestris*, *C. gronovii*, *C. pentagona*, etc. (Walker, 1975).

Ya que ciertas especies muestran especificidad a hospederos, algunos investigadores han realizado estudios para detectar la posible "señal" que permite el reconocimiento e induce la formación del haustorio y la conexión de éste con el sistema vascular del hospedero.

Dean, en 1937 (en Tsivion, 1978), afirma que el haustorio de *Cuscuta* es inducido solamente por la presión que ejerce el tallo de ésta al enrollarse en el hospedero y que no existe señal química que estimule este fenómeno.

Tsivion, en 1978, sugiere que la presencia de algunas hormonas del hospedero, como las citoquininas son las que provocan que el haustorio emerja del prehaustorio y penetre en los tejidos vasculares.

Finalmente, Kelly, en 1993, menciona que son los flavonoides de la corteza del hospedero los que pueden provocar el reconocimiento y que se trata de una respuesta fototrópica



Cuscuta major DC (*Cuscuta* de grandes flores) parasitando a una ortiga (*Urtica*)

1 = Flor 2= Flor abierta 3= Botón. Tomado de Chadeaud, 1960.

Importancia económica

Cuscuta parasita una gran variedad de especies de interés económico como legumbres, caña de azúcar, cebolla, tomate, zanahoria, alfalfa, trébol, pastos (Dinelli et al., 1993), orquídeas, plantas ornamentales, arbustos (como *Ricinus communis*), hierbas anuales y perennes (como *Ipomoea batatas*), rara vez árboles (como *Citrus grandis*) (Melkania, 1989) y se le puede encontrar en angiospermas silvestres y helechos (Kuoh & Chiang, 1988).

Es un agente causante de grandes pérdidas en los cultivos, pues afecta el crecimiento y producción de las plantas donde se aloja (por ejemplo, causa alteración en la composición de lípidos de las semillas de *Brassica juncea*, una mostaza de la India, reduce el número de vainas y el tamaño de la semilla (Mishra & Sanwal, 1992); además puede llegar a secar la alfalfa, con lo cual merma la producción de follaje y semilla, provoca debilitamiento, etc. Jauch, 1975).

Ocasiona desde leves pérdidas a grandes devastaciones, ya que un solo individuo es capaz de formar cientos de conexiones con plantas vecinas y cubrir un área mayor a 100 m² (Kelly, 1990) formando amplios parches amarillos o rojizos sobre los cultivos (Agrios, 1978).

Asimismo, es un importante transmisor de virus de plantas enfermas a sanas, como el virus del mosaico amarillo en *Phaseolus mungo* (Ahmad, 1973), el virus citrus tristeza (Balaraman & Ramakrishnan, 1979), el del mosaico de la manzana, mosaico del albaricoque, mosaico del durazno, entre otros, que infectan principalmente árboles frutales (Ahlawat & Dhingra, 1973).

Transmite el filodio en trébol (Carraro, 1991) y otros organismos de tipo micoplasma (Hibben et al., 1990), además de micofora, como *Fusarium*, *Alternaria*, *Asochyla*, etc. (Stojanovic & Boric, 1981).

Por lo anterior, la gran parte de los estudios dedicados al género se enfocan principalmente a su erradicación, por ejemplo, con productos químicos (2,4-D, 4,6-dinitro-o-sec-butilfenol,

entre otros) o mediante el uso de maquinaria de limpieza de semillas de cultivo (descuscutadoras) (Agrios, 1978) y a las relaciones parásito-hospedero (Fer, 1981).

2.4 Usos e investigaciones realizadas

A pesar de que algunos representantes del género son causa de grandes pérdidas económicas, algunas especies se valoran como medicinales.

Los escritores de Mahoma las consideraban con propiedades medicinales alternativas y depurativas, como purga contra la bilis negra (Dymok, en Agarwal, 1935) y las usaban comúnmente en afecciones del cerebro, tales como melancolía (Dioscórides en Akbar et al., 1985), ataques epilépticos, demencia (Avicena, Kazrooni, en Akbar et al., 1985), como laxante (Breitweiser, 1943) y purgante (Agarwal & Dutt, 1935); también eran útiles en temblores y desmayos del corazón, en la gota coral y dolores antiguos de la cabeza (Font, 1961).

En varias poblaciones de la India (como Ceylan, Bangladesh y Begusarai) y en Pakistán, usan *Cuscuta reflexa* (llamada "Akasbel" o "Amarvel") como antihelmíntico, en afecciones del hígado, en el control de la fiebre y tos (Said en Gilani, 1992), en las regiones tropicales es un buen remedio para la comezón o el prurito (Perry en Gilani, 1992). En las tribus de Begusarai la planta completa se hervía y el extracto se aplicaba externamente en casos de tetania, o bien se mezclaba con hojas de *Datura repens* (*Solanaceae*), algunos frutos de *Tamarindus indica* (*Leguminosae*) y alumbre, esta mezcla se hervía y se usaba en caso de fractura, artritis y torceduras (Gosh, 1987).

Ha sido utilizada como abortivo (Singh en Dandapani, 1989) y anticonceptivo (Rao, 1979).

Todas estas propiedades medicinales han intensificado los trabajos para encontrar los principios activos de algunas especies de *Cuscuta*.

Robinson y colaboradores, en 1990, observaron la sobrevivencia de *Strongyloides stercoralis* "in vitro", expuesto al extracto metanólico de *Cuscuta americana*. El 50% de parásitos se inactivaron en sólo 2 h y el 95% en 4 h, por lo cual, este extracto puede ser considerado como un producto natural potencial para el tratamiento de esta enfermedad, que produce daños en el hombre.

En otro estudio se evaluó el efecto antifertilizante del extracto alcohólico de *Cuscuta reflexa* y se obtuvieron resultados alentadores, hasta de un 50% de antifertilidad en ratas recién preñadas a las cuales se les suministró el extracto, comparándolo con otros extractos, como los de *Annoa squamosa*, *Beta vulgaris*, *Crotalaria juncea*, etc. (Rao, 1980).

Nisa y colaboradores, en 1986, dieron a conocer que el extracto acuoso de *C. chinensis* ("Aftimun") ocasiona un retraso en la aparición de carcinomas y papilomas de piel inducidos por el 7,12-dimetilbenz(a)antreno (DMBA), en ratones albinos; este efecto profiláctico fue estadísticamente significativo y puede representar una alternativa para el tratamiento de esta enfermedad. Además, el extracto acuoso de esta especie previene el daño al hígado causado por el tetracloruro de carbono (CCl₄) e inhibe la liberación de catecolaminas (Nisa, 1985).

Gilani, en 1992, observó una disminución de la presión arterial (diastólica y sistólica) y del latido del corazón, cuando se suministró extracto etanólico crudo de *C. reflexa* a ratas anestesiadas; además este extracto redujo la contracción de tejido uterino de rata "in vitro", concluyendo que la especie ejerce efectos relajantes no específicos sobre los músculos lisos y cardíaco.

El extracto acuoso de *C. chinensis* provoca efectos depresivos del sistema nervioso central, pues, ratones a los cuales se les indujo narcosis con pentobarbitol, presentaron una disminución de la actividad motora cuando se les administró por vía oral, el extracto crudo de esta especie, asimismo, mostró una actividad anticonvulsiva y analgésica sin afectar la temperatura corporal normal de estos animales (Akbar, 1985).

No obstante las investigaciones realizadas en el estudio de las actividades farmacológicas de algunas especies del género, se vuelve una necesidad conocer los compuestos químicos responsables de la actividad biológica (principios activos), así como investigar que efectos tienen en seres humanos, la dosis adecuada, etc., para poder así abatir algunas enfermedades.

Otras especies pertenecientes al género *Cuscuta* muestran otro tipo de actividad; Awasthi, en 1981, aisló una proteína (entre 14,000 y 18,000 d de peso molecular) de *C. reflexa*, que inhibe la infección de virus isométricos y anisométricos de plantas, esta proteína al ser purificada incrementó su actividad antiviral.

Verma, en 1979, previno la infección del virus del mosaico amarillo en plantas de *Nicotiana tabacum* previamente tratadas con el extracto de tallos de *C. reflexa*.

El extracto floral de *Cuscuta sp* mostró actividad nematocida ante *Helicotylenchus* (Hussain, 1976), *Meloidogyne incognita* (que ataca las semillas del tabaco) y *Rotylenchulus reniformis* (Mahmood, 1979), que son nemátodos parásitos de plantas.

3 ANTECEDENTES QUIMICOS

Los primeros estudios realizados con respecto a la composición química del género *Cuscuta* se remontan al año de 1895, cuando Barbey encontró en *C. epithymum* un glucósido amorfo que denominó cuscutina y un compuesto cristalino que pudo ser coumarina (Awargal & Dutt, 1935).

Awargal y Dutt, en 1935, aislaron de *C. reflexa* la cuscutina de Barbey y una sustancia cristalina con propiedades de lactona llamada por ellos cuscutalina, además de grandes cantidades de azúcares reductores.

Se han aislado otros compuestos, como D-mannitol (Subramanian, 1964) y mangiferina, de *C. reflexa* (Subramanian, 1966).

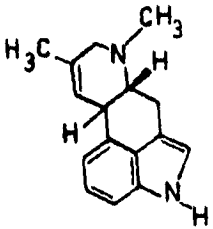
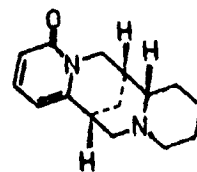
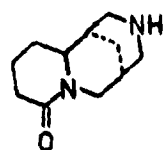
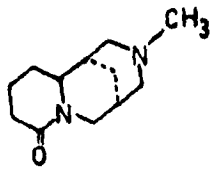
También se ha encontrado alcaloides y derivados de la coumarina en frutos de *C. lehmanniana* y *C. australis* (Lushpa, 1970).

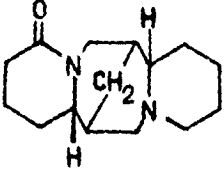
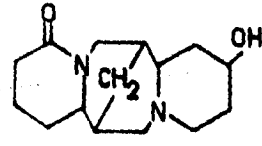
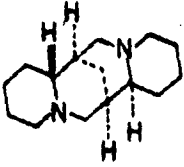
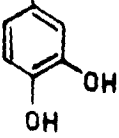
De *C. monogyna* Ikan y colaboradores, en 1968, aislaron e identificaron la agroclavina, un alcaloide ergólico. Nair, en 1987 y Arreola, en 1992, reportan también la presencia de alcaloides ergólicos en *Cuscuta*.

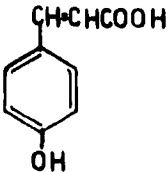
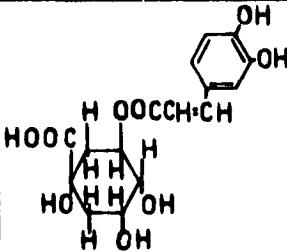
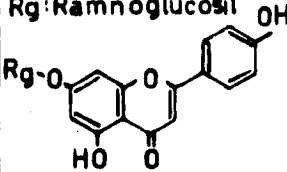
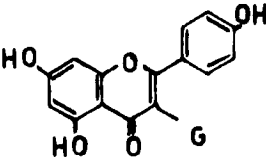
Algunas especies "secuestran" y almacenan algunos alcaloides de tipo quinolizidina como medio de defensa contra herbívoros, tal es el caso de *C. palaestina* Boiss la cual extrae la N-metilcitisina y anagirina de *Gentista acanthoclada* (Wink & Witte, 1993). De lo anterior y otros hallazgos similares, Czygan y colaboradores, en 1988 y Wink & Witte, en 1993, manejan la posibilidad de que exista un transporte activo en los haustorios para captar determinado alcaloide, ya que hay una discriminación aparente a la esparteína, 11,12-dehidroesparteína y retamina. Además, no se puede excluir la posibilidad de que esta especie extraiga la esparteína y la metabolice en lupanina y 17-oxoesparteína, las cuales son muy

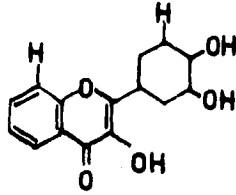
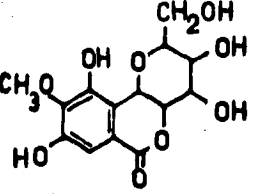
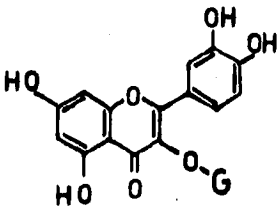
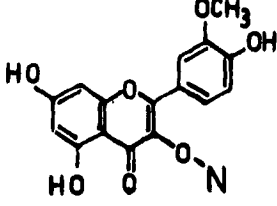
abundantes en el parásito, no así en el hospedero.

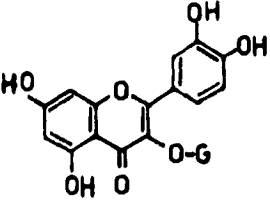
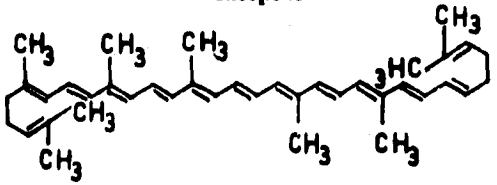
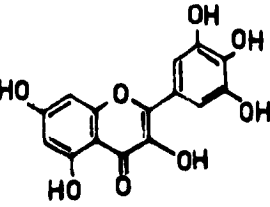
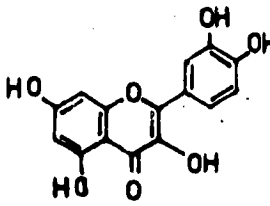
A continuación se presenta una tabla con algunos de los compuestos identificados en el género *Cuscuta*.

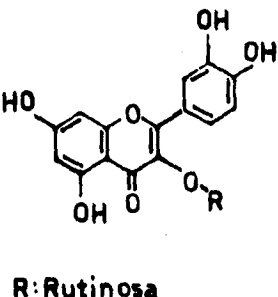
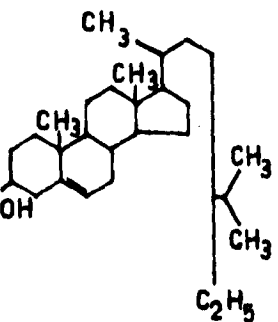
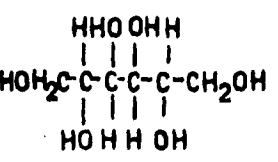
Nombre(s) del compuesto	Fórmula	Aislado de...
<p>Agroclavina (8,9-didehidro-6,8-dimetilergolina) Alcaloide</p>		<p><i>Cuscuta monogyna</i> semillas Ikan, 1968 y Mandrile, 1990</p>
<p>Anagirina (Monolupina, Romboinina) Alcaloide</p>		<p><i>Cuscuta palaestina</i> Planta completa, parasitando a <i>Genista acanthoclada</i> Wink & Witte, 1993</p>
<p>Citisina (Baptitoxina, Soforina, etc) Alcaloide</p>		<p><i>Cuscuta palaestina</i> Planta completa, parasitando a <i>Genista acanthoclada</i> Wink & Witte, 1993</p>
<p>N-metilcitisina (12-metilcitisina) Alcaloide</p>		<p><i>Cuscuta palaestina</i> . Planta completa, parasitando a <i>Genista acanthoclada</i> Wink & Witte, 1993</p>

Nombre(s) del compuesto	Fórmula	Aislado de ...
<p>Lupanina</p> <p>Alcaloide</p>		<p><i>Cuscuta palaestina</i></p> <p>Planta completa, parasitando a <i>Genista acanthoclada</i></p> <p>Wink & Witte, 1993</p>
<p>13-Hidroxilupanina (Octolupina)</p> <p>Alcaloide</p>		<p><i>Cuscuta palaestina</i></p> <p>Planta completa, parasitando a <i>Genista acanthoclada</i></p> <p>Wink & Witte, 1993</p>
<p>17-Oxoesparteína</p> <p>Alcaloide</p>		<p><i>Cuscuta palaestina</i></p> <p>Planta completa, parasitando a <i>Genista acanthoclada</i></p> <p>Wink & Witte, 1993</p>
<p>Acido caféico</p> <p>Flavonoide</p>	<p>CH=CHCOOH</p> 	<p><i>Cuscuta monogyna</i></p> <p>Planta completa</p> <p>Umarov, 1972</p>

Nombre(s) del compuesto	Fórmula	Aislado de ...
<p>Acido p-coumárico</p> <p>Flavonoide</p>		<p><i>Cuscuta japonica</i></p> <p>Tronchet, 1962</p> <p><i>Cuscuta monogyna</i></p> <p>Umarov, 1972</p>
<p>Acido clorogénico</p> <p>Flavonoide</p>		<p><i>Cuscuta japonica</i></p> <p>Tronchet, 1962</p> <p><i>Cuscuta monogyna</i></p> <p>Umarov, 1972</p>
<p>Apigenina-7-O-rutinosido</p> <p>Glicósido flavonoide</p>	<p>Rg: Ramnoglucosil</p> 	<p><i>Cuscuta reflexa</i></p> <p>Dandapani & Nagarajan, 1989</p>
<p>Astragalina</p> <p>Glicósido flavonoide</p>	 <p>G: Glucosa</p>	<p><i>Cuscuta reflexa</i></p> <p>Subramanian, 1963 y 1964</p> <p><i>Cuscuta chinensis</i></p> <p>semillas</p> <p>Xiao & Li, 1992</p>

Nombre(s) del compuesto	Fórmula	Aislado de ...
<p>Canferol (Trifolitín, Robigenina, etc)</p> <p>Flavonol</p>		<p><i>Cuscuta reflexa</i></p> <p>Frutos</p> <p>Subramanian, 1964</p> <p><i>Cuscuta epithimum</i></p> <p>Pagani, 1974</p>
<p>Cuscutina (Bergenina)</p> <p>Flavonoide</p>		<p><i>Cuscuta reflexa</i></p> <p>Kumar & Kumar, 1963</p>
<p>Hiperina</p> <p>Glicósido flavonoide</p>		<p><i>Cuscuta chinensis</i></p> <p>semillas</p> <p>Xiao & Li, 1992</p>
<p>Isoramnetin-3-O-neoesperidosido</p> <p>Glicósido flavonoide</p>		<p><i>Cuscuta reflexa</i></p> <p>Dandapani & Nagarajan, 1989</p>

Nombre(s) del compuesto	Fórmula	Aislado de ...
<p>Isoquercitrina</p> <p>Glicósido flavonoide</p>	 <p>G:Glucosa</p>	<p><i>Cuscuta japonica</i></p> <p>Tallos</p> <p>Tronchet, 1962</p>
	<p>Licopeno</p> 	<p><i>Cuscuta reflexa</i></p> <p>Dandapani & Nagarajan, 1989</p>
<p>Miricetina</p> <p>Flavonol</p>		<p><i>Cuscuta reflexa</i></p> <p>Frutos</p> <p>Subramanian, 1963</p>
<p>Quercetrina</p> <p>Flavonol</p>		<p><i>Cuscuta epithymum</i></p> <p>Pagani, 1974</p> <p><i>Cuscuta chinensis</i></p> <p>Xiao & Li, 1992</p>

Nombre(s) del compuesto	Fórmula	Aislado de ...
<p>Rutina</p> <p>(Fitomelina, ilixantina, etc.)</p> <p>Glicósido flavonoide</p>	 <p>R: Rutinosa</p>	<p><i>Cuscuta japonica</i></p> <p>Tallos</p> <p>Tronchet, 1962</p>
<p>β-sitosterol</p> <p>(Cinchol, Sitosterina, etc.)</p> <p>Esterol</p>		<p><i>Cuscuta reflexa</i></p> <p>Tallos</p> <p>Kumar & Kumar, 1963</p>
<p>Dulcitol</p> <p>(Galactol)</p> <p>Polialcohol</p>		<p><i>Cuscuta reflexa</i></p> <p>Frutos y tallos</p> <p>Subramanian, 1963 y 1966</p>

4 UBICACION TAXONOMICA

4.1 Clasificación del género

Según Lyndon, 1970

División **ESPERMATOPHYTA**
Clase II **DICOTYLEDONEAE**
Subclase II **METACHLAMYPDAE**
Orden XVIII **POLEMONIALES**
Familia **CONVOLVULACEAE**
Tribu **CUSCUTAE**
Género *Cuscuta*

Según Cronquist, 1988

División **MAGNOLIOPSIDA**
Clase **MAGNOLIOPSIDAE**
Subclase **ASTERIDAE**
Orden **SOLANALES**
Familia **CUSCUTACEAE**
Género *Cuscuta*

Las diferencias en las clasificaciones anteriores se deben principalmente al hábito parásito de *Cuscuta*. Engler, en 1964, propone que se deben ubicar las especies de este género en una subfamilia de *Convolvulaceae*.

Lawrence, en 1951, y Lyndon, en 1970, colocan este género en una tribu de la familia *Convolvulaceae* con la cual comparten características comunes, sobre todo en las referentes con la morfología floral. Willis, en 1973 y Cronquist, en 1988, elevan a rango de familia la tribu *Cuscutae* de los autores antes mencionados. Cronquist pensó que las cuscutas provienen de las *Convolvulaceae* (por el hábitat de éstas y poseer tallos volubles) y que se especializaron al hábito parásito.

Como puede observarse siempre ha existido controversia en cuanto a la clasificación del género.

4.2 Descripción

Cuscuta es una planta vascular parásita conocida comúnmente como dodder, zacatlaxale, amarvel, etc. Sus tallos son volubles, lisos, herbáceos y filiformes de color amarillo, anaranjado o rojizo. El sistema vascular del eje consiste de tejido primario, sin embargo se considera como una forma reducida del sistema vascular de *Convolvulaceae* y se encuentra rodeado, a veces, por una funda de células con abundante protoplasma; hay algunos grupos diminutos de vasos acompañados por filamentos de floema que pueden estar íntimamente empaquetados y constituyen un anillo. El floema es más desarrollado que el xilema (Metcalfé, 1950).

Las hojas están reducidas a escamas dispuestas en forma alterna en el tallo. El sistema vascular de éstas es muy pequeño y se encuentra, generalmente, embebido en un mesófilo homogéneo; el tejido empalizada es raro, los estomas son numerosos en algunas especies; las células secretoras se encuentran en el cortex primario, periciclo y rara vez en la médula del eje (Metcalfé, 1950).

Las flores son pequeñas de 2 a 6 mm de longitud, son perfectas, sésiles o con un corto pedicelo, generalmente pentámeras aunque las hay triméras o tetrámeras, lisas o papilosas, gruesas o delgadas y algunas veces membranosas, por lo común son blancas o amarillas, se agrupan en conjuntos cimosos. El cáliz es sinsépalo o con los sépalos separados (característica no muy común): corola simpétala, campanulada, tubular o ligeramente unceolada con lóbulos ovalados, lanceolados, extendidos o reflejos, presentan frecuentemente apéndices a manera de láminas insertos en la base. Los estambres se encuentran alternados con los lóbulos de la corola, tienen anteras sésiles. El ovario es bilocular, cada lóculo con dos óvulos y dos estilos separados. El fruto es ovoide o una cápsula indehiscente o revienta irregularmente, normalmente con cuatro semillas. Semillas subredondas de 1.5 a 1.7 mm de diámetro, con envolturas rugosas de color terroso en la madurez; el embrión es delgado

enrollado o espiralado y sin cotiledones (Yuncker, 1932).⁵

La planta presenta haustorios (chupadores) durante la fase parasítica que sirven como canales de flujo de nutrientes y se encuentran en el lado cóncavo del tallo, con lo que éste adquiere un aspecto de relieve irregular (Tronchet, 1962), éstos se conectan directamente a los elementos vasculares del hospedero (Stransburger, 1988).

El haustorio se desarrolla a partir de un prehaustorio externo del cual emerge para alcanzar los tejidos internos del hospedero hasta después de que el parásito tomó contacto con éste, sin embargo, sólo emerge si existen las condiciones favorables. Estas estructuras son funcionales después de cuatro a cinco días a partir de su formación (Tsivion, 1978).

Los haustorios constan principalmente de hifas que se originan de un pequeño grupo de células meristemáticas de la epidermis, las cuales se dividen y elongan penetrando en los tejidos de la planta hospedera; las hifas pueden ser de tres tipos: de contacto, intra e intercelulares (Fanh, 1989).

4.3 División

El género *Cuscuta* se divide en tres subgéneros de acuerdo a las características del estigma y el estilo. El subgénero *Grammica* (estigma globoso, capitado; estilos distintos) es el más grande y se divide en dos secciones y 24 subsecciones. El subgénero *Monogyna* es el más pequeño y se caracteriza por presentar estilos unidos y estigma de diversas formas, nunca lineales; cuenta con dos secciones. Por último el subgénero *Cuscuta* presenta estigmas alargados y estilos separados, se divide en 4 secciones y 5 subsecciones (Diagrama 2).

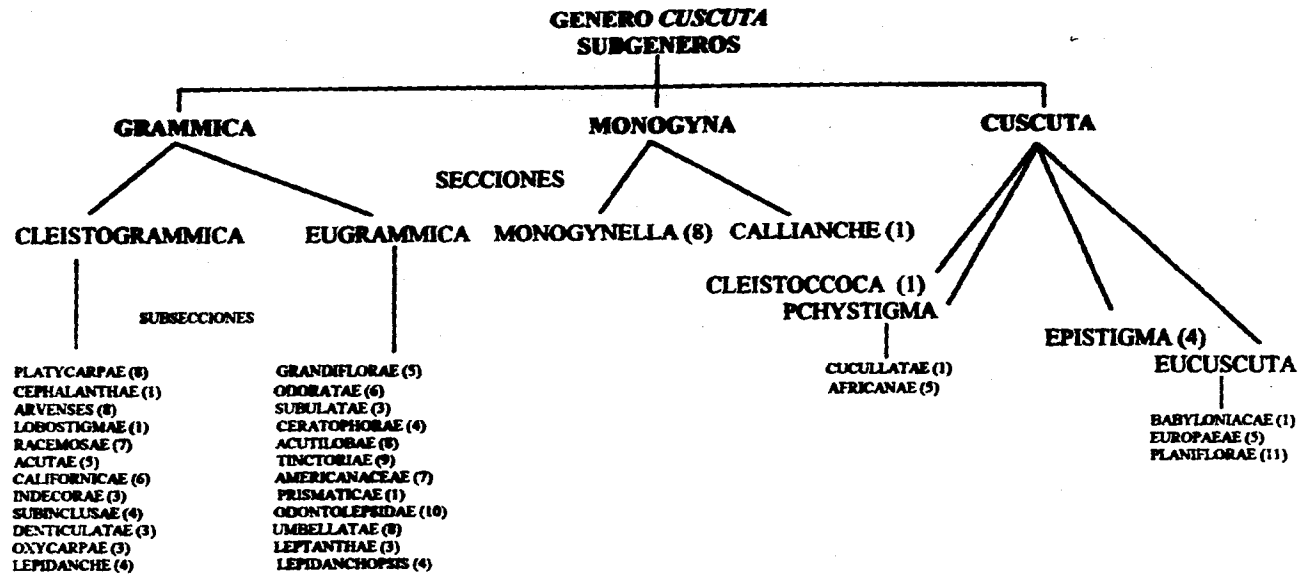


Diagrama 2 Arreglo taxonómico de los subgéneros, secciones y subsecciones de *Cuscuta*, según Yunker, 1932 (entre paréntesis se encuentra el número de especies incluidas en cada grupo).

4.4 Ubicación taxonómica de las especies estudiadas (Según Lydon, 1970 y Yuncker, 1932)

Cuscuta americana

División	Espermatophyta
Subdivisión	Angiosperma
Clase II	Dicotiledoneae
Subclase II	Metachlamydae
Orden XVIII	Polemoniales
Familia	Convolvulaceae
Tribu	Cuscutae
Género	<i>Cuscuta</i>
Subgénero	Grammica
Sección	Eugrammica
Subsección	Americanae
Especie	<i>americana</i>

Cuscuta arvensis

División	Espermatophyta
Subdivisión	Angiosperma
Clase II	Dicotyledoneae
Subclase II	Metachlamydae
Orden XVIII	Polemoniales
Familia	Convolvulaceae
Tribu	Cuscutae
Género	<i>Cuscuta</i>
Subgénero	Grammica
Sección	Cleistogrammica
Subsección	Arvenses
Especie	<i>arvensis</i>

Sinonimias de *Cuscuta arvensis* Beyrich

El nombre de *Cuscuta arvensis* ha sido comúnmente aplicado a diversas formas de *Cuscuta* nativas de Norte América. El nombre fue primeramente aplicado por Beyrich a un espécimen de herbario sin alguna descripción.

Engelmann, en 1842, describió la misma forma mencionada como *C. pentagona* y la

consideró como un posible sinónimo de *C. gronovii*.

Por otra parte, Hooker, en 1840, en su obra "Flora de Norte América" parece ser el primero en hacer referencia a la *C. arvensis* de Beyrich e incluye este nombre como sinónimo de su *C. americana*. Fue probablemente en esta publicación que Engelmann escuchó acerca del nombre de *arvensis*. Engelmann en su manual Gray's segunda edición, utilizó el nombre de *C. arvensis* Beyrich para las especies que originalmente denominó *C. pentagona* y también incluyó con la forma típica, las variedades *microcalix*, *calycina* y *verrucosa* (Yuncker, 1932).

Según Yuncker, en 1932, podría parecer conveniente retener el nombre de *C. pentagona* de Engelmann para la forma típica, incluyendo su variedad *microcalix*.

Asimismo, Yuncker piensa que es apropiado llamar *C. campestris* a *C. arvensis* aunque este nombre haya sido aplicado primeramente por Beyrich a una forma de *C. pentagona* y además considera que las variedades *verrucosa* y *pubescens* de Engelmann representan especies distintas (Yuncker, 1932).

Cuscuta corymbosa var. *stylosa*

División	Espermatophyta
Subdivisión	Angiosperma
Clase II	Dicotiledoneae
Subclase II	Metachlamydae
Orden XVIII	Polemoniales
Familia	Convolvulaceae
Tribu	Cuscutae
Género	<i>Cuscuta</i>
Subgénero	Grammica
Sección	Eugrammica
Subsección	Americanae
Especie	<i>corymbosa</i>
Variedad	<i>stylosa</i>

Cuscuta tinctoria

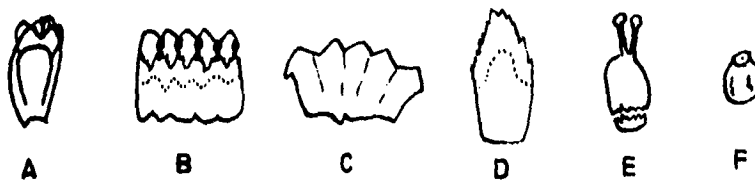
División	Espermatophyta
Subdivisión	Angiosperma
Clase II	Dicotyledoneae
Subclase II	Metachlamydae
Orden XVIII	Polemoniales
Familia	Convolvulaceae
Tribu	Cuscutae
Género	<i>Cuscuta</i>
Subgénero	Grammica
Sección	Eugrammica
Subsección	Tinctoriae
Especie	<i>tinctoria</i>

4.5 Descripción de las especies estudiadas y su distribución

Cuscuta americana Linnaeus (Yuncker, 1932)

Tallos medianos. Flores de 2 a 3 mm de longitud, subsésiles y cerradamente compactadas en grupos de flores, usualmente de color café oscuro en especímenes de herbario (A). Cáliz tubular tan largo o más corto que el tubo corolino, lóbulos anchamente ovados solapados, obtusos, la mayoría mucho más cortos que anchos (C). Corola cilíndrica, incluida en el cáliz, lóbulos ovados, obtusos verticales o levemente expandidos (B). Escamas triangulares o, a veces un poco oblongas, con procesos cortos, más cortas que el tubo corolino o, a veces alcanzan la base de los estambres, ordinariamente tienden el puente encima de la mitad de los estambres (B y D). Estambres subsésiles, sobre filamentos más cortos que las anteras; las anteras ovales y frecuentemente con el conectivo apiculado. Cápsula globosa-ovoide, circuncísil, cubierta por la corola marchita (E); semillas casi de 1.5 mm de longitud, una en cada cápsula, ovoides, con una muesca corriendo longitudinalmente, hilo pequeño, oval, oblicuo o reducido a una mancha (F).

Cuscuta americana es común en el Oeste de la India y menos común en México.

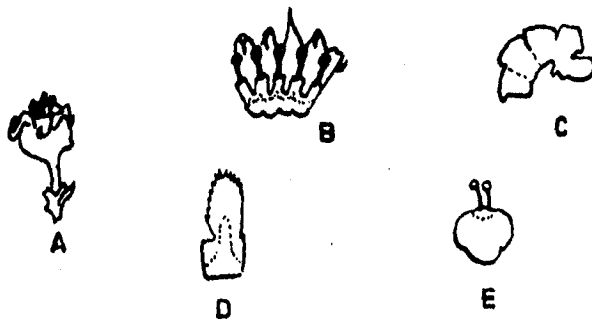


Cuscuta americana A) Flor completa B) Corola abierta C) Cáliz abierto

D) Escama infraestaminal E) Ovario F) Semilla. Tomado de Yuncker, 1932.

***Cuscuta arvensis* Beyrich (Yuncker, 1932)**

Tallos delgados o medianamente gruesos. Flores de aproximadamente 1.5 mm de largo, más o menos glandulares, sobre pedicelos de aproximadamente la misma longitud que las flores, inflorescencias cimosas (A). Cáliz en su mayor parte adosado al tubo corolino, lóbulos cortos, anchos, ovados, obtusos, imbricados a lo ancho formando ángulos, dando al cáliz una apariencia angular (C). Corola con lóbulos extendidos, angostos, lanceolados, con puntas agudas dobladas, casi iguales o más cortos que el ovario, estigmas pequeños, globosos (B). Estambres más cortos que los lóbulos de la corola, filamentos delgados o algunas veces subulados más largos o casi iguales a las anteras ovals. Láminas infraestaminales prominentes fimbriadas en la parte terminal (B y D). Ovario globoso, estilos delgados casi iguales o más cortos que el ovario, estigmas pequeños globosos (E). Cápsula globosa, ovoide o globosa-comprimida siendo muy notorias en las corolas secas, semillas globoso-comprimidas, frecuentemente aplanadas en una de sus caras, hilo corto, oblongo, terminal, transverso y de casi 1 mm de longitud.



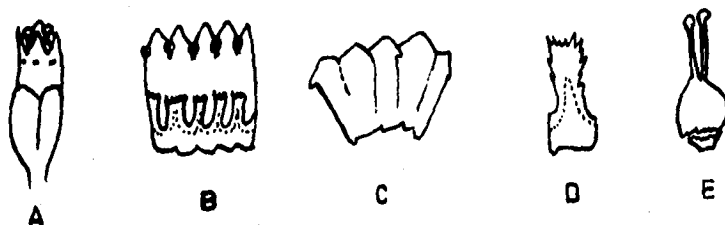
***Cuscuta arvensis* A) Flor completa B) Corola abierta C) Cáliz abierto**

D) Escama infraestaminal E) Ovario. Tomado de Yuncker, 1932.

***Cuscuta corymbosa* Ruiz y Pavón (Yuncker, 1932)**

Tallos medianamente gruesos de 0.4 a 1.8 mm de grosor en ejemplares de herbario. Flores cerca de 4 mm de longitud sobre pedicelos casi iguales al tamaño de las flores (A). Cáliz membranoso, casi alcanzando la mitad del tubo corolino, lóbulos cortos, anchos, obtusos, levemente solapados (C). Tubo de la corola 3 ó 4 veces más largo que sus lóbulos, lóbulos ovado-oblongos, obtusos, verticales a extendidos (B). Escamas delgadas, angostas casi alcanzando la mitad del tubo corolino, dentadas o con proceso irregular, tienden el puente abajo de la mitad del tubo corolino (B y D). Estambres casi de la mitad de largo de los lóbulos (B), anteras ovado-cordado de casi igual tamaño que los filamentos. Ovario globoso (E) u ovoide, estilos más grandes que el ovario. Cápsula pequeña, globosa, circuncisil, cubierta y rodeada por la corola marchita; semillas casi de 1.5 mm de longitud, de 1 a 4 en cada cápsula, oblicuas, hilo corto.

Cuscuta corymbosa es conocida en Perú y en el Valle de México representada por las variedades *siylosa* y *grandiflora*.



Cuscuta corymbosa A) Flor completa B) Corola abierta C) Cáliz abierto

D) Escama infraestaminal E) Ovario. Tomado de Yuncker, 1932.

***Cuscuta corymbosa* variedad *stylosa* Engelmann (Rzedowski & Rzedowski, 1985)**

Flores de casi 4 a 6 mm de longitud. Corola cilíndrica y levemente, no en toda, protuberante o poco bulbosa en la porción basal. Ordinariamente el cáliz no alcanza más allá de la mitad del tubo corolino. Filamentos de los estambres tan largos como las anteras. Ovario globoso-ovoide o cónico. Escamas a lo sumo llegan a la mitad.

En el Valle de México se ha colectado en los municipios y delegaciones de Huehuetoca, Ecatepec, Gustavo A. Madero, Texcoco, Cuajimalpa, Tiáhuac, Chalco y Xochimilco entre 2250 y 2300 m de altitud. Conocida únicamente del Valle de México.

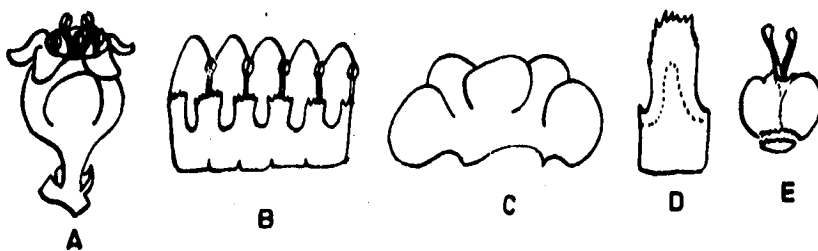


Flor de *Cuscuta corymbosa* variedad *stylosa*. Tomado de Yuncker, 1932.

***Cuscuta tinctoria* Martius (Yuncker, 1932)**

Tallos de 0.5 a 2.5 mm de diámetro. Flores lisas de 4 a 5 mm de longitud, sésiles o en cortos pedicelos, algunas veces solitarias y protegidas por una bráctea simple que es ovado-orbicular o en densos glomérulos (A). Los lóbulos del cáliz desiguales, obtusos, sobrelapados en la base, casi tan largos como la corola, a veces provistos de quilla en forma de cresta, margen entero a algo irregular (C). Corola campanulada, llegando a ser urceolada en el fruto, delgada hacia la base; lóbulos ovados a veces oblongos, obtusos, sobrelapados, verticales o a veces extendidos (B). Escamas alcanzando los filamentos, tienden el puente casi a la mitad de los lóbulos de la corola (D). Estambres más cortos que las anteras. Anteras oval-oblongas. Ovario globoso, estilos más largos que el ovario, llegando a convertirse en una proyección en el fruto (E). Cápsula deprimido globosa, circuncisil; semillas casi de 1.5 cm de longitud; 3 ó 4 usualmente en cada cápsula, anguladas, hilo oblongo, linear-transverso.

Esta especie se encuentra de México a Guatemala. En el Valle de México se le encuentra entre 2250 y 2600 m de altitud, en Zumpango, Teotihuacán, Ecatepec, etc. Fue utilizada para fines de tinción (Rzedowski & Rzedowski, 1985).



Cuscuta tinctoria A) Flor completa B) Corola abierta C) Cáliz abierto

D) Escama infraestaminal E) Ovario. Tomado de Yuncker, 1932.

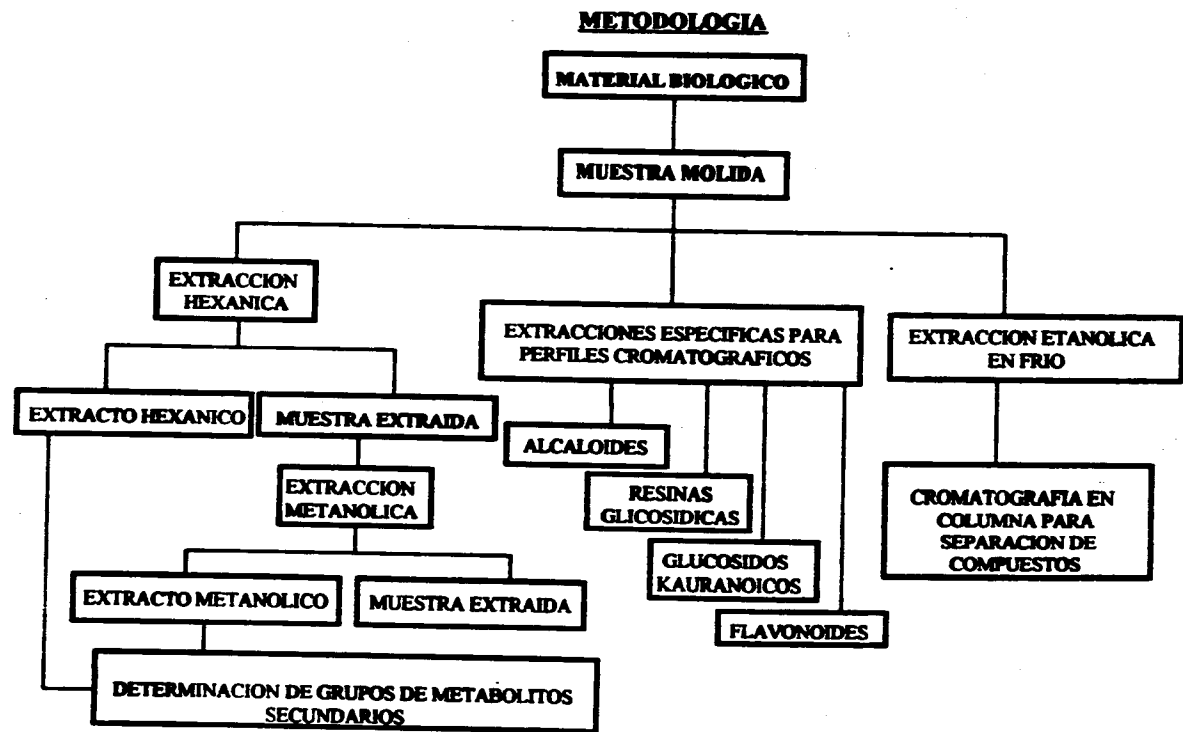


DIAGRAMA METODOLOGICO

5 METODOLOGIA

5.1 Preparación del material biológico

Colecta

El material de estudio se colectó en el Valle de México en los sitios que indica el siguiente cuadro.

ESPECIE	1993		SITIO DE COLECTA
	SEQUIA	LLUVIAS	
<i>Cuscuta americana</i>	Enero	Septiembre	Coyoacán
<i>Cuscuta arvensis</i>		Julio	Amecameca
<i>Cuscuta corymbosa</i>	Enero	Septiembre	Pedregal de San Angel
<i>Cuscuta tinctoria</i>	Enero	Julio	Zumpango

Sólo *Cuscuta tinctoria* de la colecta de enero presentó flores las cuales se separaron de los tallos para su estudio.

Secado

El material biológico colectado se dejó secar a temperatura ambiente sobre papel periódico.

Molienda

Tanto los tallos como las flores se molieron en un molino manual hasta obtener un polvo fino.

5.2 Preparación de los extractos hexánicos y metanólicos

Extracción hexánica

Se extrajeron 20 g de muestra con hexano en aparato de Soxhlet y calentamiento en baño de vapor (3 extracciones de 8 h cada una). Los extractos obtenidos se concentraron al vacío en rotavapor, se secaron, se pesaron y se calculó su rendimiento (Tabla I).

Extracción metanólica

El material, después de extraído con hexano, se secó a temperatura ambiente y se sometió a tres extracciones de 8 h cada una con metanol. El procedimiento empleado fue el mismo que para los extractos hexánicos (Tabla II).

5.3 Determinación de grupos de metabolitos secundarios

Preparación de las soluciones para realizar las pruebas de metabolitos secundarios

Para preparar las soluciones se pesaron 50 mg de extracto y se adicionaron 10 ml de disolvente, cloroformo para los extractos hexánicos y metanol para los metanólicos. De esta solución se tomó 1 ml para realizar cada una de las siguientes pruebas: Alcaloides, Terpenos-Esteroides, Flavonoides y Glicósidos.

A los extractos hexánicos sólo se les determinó la presencia de Terpenos-Esteroides y a los metanólicos todas las pruebas (Tabla III).

Prueba de alcaloides

-Con el reactivo de Dragendorff

Se llevó a sequedad el mililitro de cada solución problema y se redisolvió en 1 ml de HCl al 1%, se agregaron dos gotas del reactivo. La prueba es positiva si hay formación de precipitado.

-Con el reactivo del ácido silicotúngstico

La prueba se realizó tratando las muestras problema de la misma forma que la prueba anterior. Es positiva si se forma un precipitado.

Prueba de terpenos-esteroides de Liebermann-Burchard

Se mezclaron 1 ml de anhídrido acético y 1 ml de cloroformo a 0° C y se añadió una gota de ácido sulfúrico concentrado. Se agregó 1 ml de reactivo a la solución problema. La prueba es positiva si se obtiene una coloración verde (para terpenos) o rosa (para esteroides).

Prueba de Shinoda para flavonoides

Se agregó un trozo de limadura de magnesio y una gota de ácido clorhídrico concentrado a la solución problema. Se observa un cambio de coloración: anaranjada, rojo-azuloso, rojo o violeta si están presentes flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles o xantonas.

Prueba de Möllish para glicósidos

Se agregaron dos gotas del reactivo de α -naftol y, estratificando, 1 ml de ácido sulfúrico concentrado a la solución problema. Se observa un anillo violeta entre las fases si la prueba es positiva.

5.4 Determinación de perfiles cromatográficos de alcaloides

Extracción de la muestra (Wilkinson, 1986)

Se pesaron 2 g de planta seca y molida y se maceraron en mortero con 50 ml de solución de acetona-ácido tartárico 7:3 durante 30 min. El líquido de maceración se filtró y al macerado se le adicionaron 50 ml más de la misma mezcla, dejándolo reposar 10 min. Esta última operación se repitió una vez más.

A los filtrados (150 ml) se les evaporó la acetona en rotavapor; después se pasaron a un embudo de separación y se lavaron 3 veces con 25 ml (cada una) de solución de cloruro de metileno-isopropanol 3:1, desechando la fase orgánica cada vez.

Se midió el pH, el cual osciló entre 1 y 2 y se añadieron 25 ml de solución saturada de bicarbonato de sodio para alcalinizar a pH 8. Posteriormente se extrajo con solución de cloruro de metileno-isopropanol 3:1 (3 veces con 25 ml) y finalmente se eliminó el disolvente a presión reducida.

Prueba para presencia de alcaloides

El extracto seco (10 mg) se disolvió en 2 ml de metanol y de aquí se tomó 1 ml para realizar la prueba de Van Urk y el otro mililitro se utilizó para correr placas de prueba y verificar presencia de alcaloides.

1) Prueba de Van Urk

Se lleva a sequedad un mililitro de extracto alcaloidal y se agrega 1 ml de solución de ácido sulfúrico 0.1 N. Se añaden 2 ml de reactivo de Van Urk agitando hasta obtener una mezcla homogénea y se deja reposar por 30 min. De aparecer cambio de coloración azul o violeta la prueba es positiva.

2) Placas

Se aplicaron 2.5 µl de extracto de las muestras *Cuscuta arvensis* y *Cuscuta tinctoria* en placas delgadas de gel de sílice y se eluyeron con cloroformo-metanol 9:1, para la unidimensional (Fig. 1) y con cloroformo-metanol 9:1 y cloroformo dietilamina 9:1 para las bidimensionales (Figs. 2 y 3).

Las placas se observaron a la luz UV y se marcaron con línea punteada los compuestos fluorescentes, a continuación se revelaron con reactivo de Van Urk. Los alcaloides de referencia aplicados fueron: lisergol, amida del ácido lisérgico y ergotamina.

Cromatografías bidimensionales

Se corrieron cromatografías bidimensionales (Figs. 4 a 7) con las 4 especies, en folios de aluminio de gel de sílice de 20x20 cm, aplicando 5 µl de muestra del extracto alcaloidal y las referencias mencionadas.

Las placas se eluyeron con cloroformo-metanol 8:2, después, en la misma dirección, con cloruro de metileno-2 propanol 3:1 y para la segunda dirección con benceno-dimetilformamida 66.5:13.5.

Cromatografía unidimensional

Por último se corrió una placa delgada de gel de sílice de 15 cm de frente, en la que se aplicaron todas las muestras que contenían alcaloides (Fig. 8) y las referencias utilizadas anteriormente, con el fin de hacer comparaciones interespecíficas; el sistema de disolventes utilizado fue: cloroformo-metanol 9:1 y se reveló con luz UV y reactivo de Van Urk.

5.5 Determinación de perfiles cromatográficos de resinas glicosídicas

100 mg de muestra, finamente molida y desengrasada con hexano, se maceraron en mortero con 3 ml de acetato de etilo durante 1 h. El macerado se filtró y del filtrado se tomaron 20 μ l para aplicar en placa delgada de gel de sílice. La placa se corrió con un frente de 10 cm, se eluyó con cloroformo-metanol 9:1 y se reveló con sulfato cérico previa observación con luz UV de onda larga (365 nm) (Fig. 9).

Los testigos empleados fueron una mezcla de resinas extraídas de raíz de *Ipomoea orizabensis* y un extracto de semillas de *I. murucoides*, preparado en la misma forma que el de las muestras.

5.6 Determinación de perfiles cromatográficos de glucósidos kauranóicos

A 100 mg de muestra, finamente molida y desengrasada con hexano, se agregaron 3 ml de metanol y se agitaron (con agitador magnético a temperatura ambiente) durante 1 h; al término de este tiempo se filtró y la operación se repitió dos veces más.

El filtrado (9 ml) se redujo a 3 ml al vacío y de él se tomaron 10 μ l que se aplicaron en placa delgada de gel de sílice, la cual se eluyó con butanol-ácido acético-agua 5:1:4 y se corrió con un frente de 10 cm.

Como referencia se empleó un extracto de semillas de *Turbina corymbosa* preparado en la misma forma.

Una vez seca, la placa se observó a la luz UV (365 nm) y las manchas que aparecieron se marcaron con línea punteada, también se reveló con sulfato cérico (Fig. 10) y las manchas se marcaron con línea llena.

5.7 Determinación de perfiles cromatográficos de flavonoides

Cromatogramas bidimensionales

Las cromatografías se hicieron en folios de celulosa Merck de 10x10 cm (Figs. 11 a 18), uno para cada especie. Se aplicaron 2.5 µl de una solución de 10 mg de extracto metanólico disueltos en 2 ml de metanol y como referencia rutina.

Los folios se eluyeron con terbutanol-ácido acético-agua 3:1:1, se dejaron secar y se observaron a la luz UV de onda larga (365 nm), las manchas que aparecieron se marcaron con línea punteada y se anotó el color de cada una. En seguida se eluyeron con ácido acético al 15% en la segunda dimensión; se dejaron secar y se observaron a la luz UV, siguiendo el mismo procedimiento de marcaje, pero con línea llena.

Posteriormente, cada folio se pasó por vapores de hidróxido de amonio y se anotó el cambio de coloración, cuando este ocurrió.

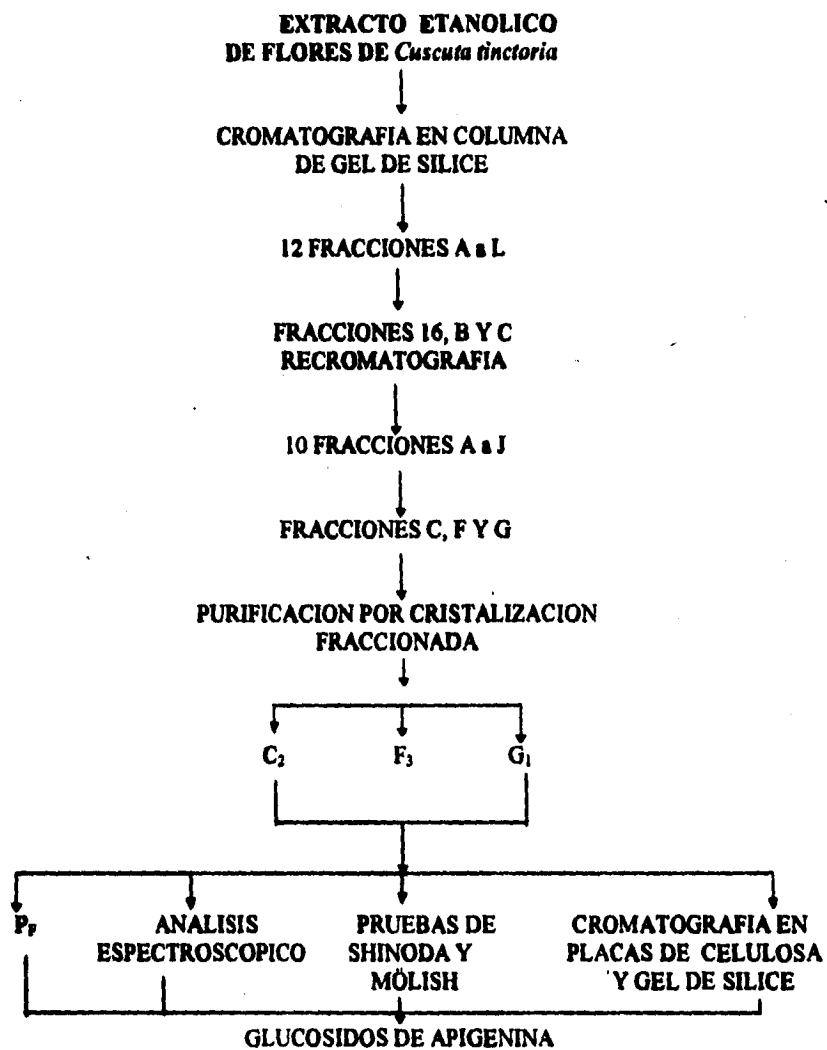


DIAGRAMA METODOLOGICO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Cuscuta tinctoria*

5.8 Separación de compuestos del extracto etanólico

Para obtener el extracto con el cual se realizó esta separación, las muestras desengrasadas con hexano, de todas las especies, se sometieron a extracción etanólica en frío, tres extracciones de 8 h cada una. La cantidad sometida a extracción varió según la cantidad de material disponible (Tabla IV). Los extractos se pesaron y se calculó su rendimiento.

Perfil cromatográfico del extracto

Se pesaron 10 mg de extracto etanólico de cada muestra y se disolvieron en 2 ml de etanol. De esta solución se tomaron 20 µl y se aplicaron en placa delgada de gel de sílice de 5 cm de frente y se eluyó con acetato de etilo (con el cual se obtuvo la mejor resolución de las manchas). La placa se observó a la luz UV (365 nm), se marcaron las manchas y se reveló con reactivo de Liebermann-Burchard modificado (Fig. 19); además, se corrió una segunda placa, en las mismas condiciones, que se reveló con solución acuosa de subacetato de plomo al 25%.

Pruebas de solubilidad del extracto etanólico de flores de *Cuscuta tinctoria*

Las pruebas de solubilidad se realizaron en tubos de 10 ml, colocando 5 mg de extracto y adicionando lentamente a cada uno, los siguientes disolventes:

Acetato de etilo-hexano 6:4, acetato de etilo y cloroformo.

El mejor disolvente fue el acetato de etilo por lo que se eligió para iniciar la cromatografía.

Separación de los componentes por cromatografía en columna

Se disolvieron 9.00 g del extracto etanólico de las flores de *Cuscuta tinctoria* en 50 ml de acetato de etilo en caliente. Al enfriar se formó un precipitado (2.25 g) el cual se filtró y se corrió en placa delgada junto con el filtrado y el extracto crudo (Fig. 20).

El filtrado se evaporó a sequedad y del extracto seco se disolvieron 4.80 g en 10 ml de acetato de etilo para la cromatografía. Se utilizó una columna empacada con gel de sílice, Merck 60, activado 1 h a 110° C, en proporción de 1:80, y se eluyó con un gradiente de polaridad creciente hasta terminar con metanol.

Se colectaron 140 fracciones de 50 ml cada una, las cuales se llevaron a sequedad a presión reducida en el rotavapor. Se corrieron placas cromatográficas de control de las fracciones y se reunieron aquellas que tuvieron perfiles iguales y apariencia semejante (excepto la fracción 16 que fue cristalina). Se obtuvieron así 12 nuevas fracciones (A a L), las cuales se pesaron (Tabla V).

Las fracciones 8, 13 y 16 se corrieron en placa delgada con β -sitosterol y lupeol como referencias (Fig. 21).

Los cristales que se formaron en la fracción 16 se filtraron (219 mg), se les determinó su punto de fusión (Tabla VI) y su perfil cromatográfico (Fig. 23), recrystalizándose de una mezcla de acetato de etilo-hexano 8:2 (fig. 24).

Estos cristales, sus aguas madre (fracción 16) y las fracciones B y C de la cromatografía, que tuvieron el mismo perfil (Fig. 22), se reunieron para volverse a cromatografiar.

Segunda cromatografía

Se preparó la columna con gel de sílice Merck 60, activado 1 h a 110° C, en proporción de 1:80. La muestra (fracción 16, B y C, 1.722 g) se disolvió en acetato de etilo-hexano 6:4, se agregó a la columna y se eluyó con un gradiente de polaridad creciente hasta terminar con acetato de etilo.

Se colectaron 212 fracciones de 25 ml cada una, las cuales se llevaron a sequedad a presión reducida. Se corrieron las placas de control de las fracciones y de acuerdo con la semejanza

de su perfil se reunieron en 10 nuevas fracciones (A a J) (Tabla VII).

Purificación de algunas fracciones

Las fracciones C, F y G (Fig. 25) se recrystalizaron de hexano-acetato de etilo 8:2, varias veces, controlándose la pureza de la muestra por placa delgada (Fig. 26) y punto de fusión (Tabla VIII).

De las muestras purificadas C₂, F₃ y G₂ (Fig. 26) se determinaron espectros en el ultravioleta e infrarrojo, de resonancia magnética protónica (Figs. 29 a 37) y de masas.

De estas muestras se corrió una placa de celulosa de 10 cm de frente y rutina como referencia. La placa se eluyó con butanol-ácido acético-agua en proporción 4:1:5, se observó a la luz UV (365 nm) y se reveló con solución acuosa de subacetato de plomo al 25%, después de lo cual se volvió a ver a la luz UV (365 nm)(Fig. 27).

Además, se corrió una placa delgada de gel de sílice de 10 cm de frente, eluyéndose esta vez, con hexano-acetato de etilo 1:1 y también se reveló con solución acuosa de subacetato de plomo al 25% (Fig. 28).

Con estas muestras se hicieron pruebas de Mölish para glicósidos y de Shinoda para flavonoides (Tabla IX).

6 RESULTADOS Y DISCUSION

Material Biológico

De las cuatro especies estudiadas se colectaron tallos en las dos temporadas anuales (sequía y lluvias) excepto de *C. arvensis* que no se encontró en la época de sequía. Por otra parte, sólo se colectaron flores de *C. tinctoria* en enero debido a que las demás no se encontraban en floración.

Extracciones

Todas las muestras de las cuatro especies se extrajeron primero con hexano y después con metanol, para separar los compuestos de baja polaridad de los de alta polaridad. Los rendimientos obtenidos se encuentran en las Tablas I y II.

Además se hizo una extracción en etanol a temperatura ambiente, con todas las muestras previamente desengrasadas con hexano. Esta extracción se efectuó con el propósito de separar compuestos flavonoides y terpénicos. Se emplearon las flores de *C. tinctoria* porque fue la estructura que dio mayor rendimiento (Tabla IV) y su perfil en placa delgada mostró que era la que tenía mayor número de compuestos y en mayor concentración que las demás (Fig. 11). Esta placa se corrió por duplicado, revelando una con reactivo de Liebermann-Burchard para terpenos y esteroides y otra con reactivo de solución acuosa de subacetato de plomo al 25%, para flavonoides.

Determinación de grupos de metabolitos secundarios

La determinación de grupos de metabolitos secundarios se realizó mediante las reacciones usuales (Tabla III).

Los alcaloides no se detectaron en la época de sequía, excepto en flores de *C. tinctoria* en

donde la reacción fue ligeramente positiva con ácido silicotúngstico, en tanto que en la época de lluvias la reacción fue positiva en los tallos de las cuatro especies.

Los flavonoides se encontraron en todas las especies y en ambas temporadas, al igual que los terpenos.

Los glicósidos se encontraron en las dos temporadas en *C. americana* y *C. corymbosa*, no se encontraron en época de lluvias en *C. arvensis* y *C. tinctoria*.

Determinación de perfiles cromatográficos de alcaloides

En el género *Cuscuta* hubo interés en confirmar la presencia de alcaloides ergólicos, reportada por Ikan y colaboradores (1968), Nair (1987) y Arreola (1992), para lo cual se hicieron dos diferentes perfiles cromatográficos, uno bidimensional y el otro unidimensional.

Antes de correr los perfiles cromatográficos se hicieron placas de prueba (Figs. 1, 2 y 3) y el ensayo con reactivo de Van Urk. En ambos casos el resultado fue positivo.

En la placa unidimensional (Fig. 8), corrida con ergotamina, lisergol y la amida del ácido lisérgico como referencias, se observaron manchas con R_f iguales a la de la amida del ácido lisérgico y a la del lisergol en todas las especies. No se pudo detectar la presencia de ergotamina. Estos mismos resultados se observaron en los perfiles bidimensionales (Figs. 4 a 7).

Por lo anterior, se reafirma la presencia de alcaloides en el género, pero debe hacerse notar que solamente es posible detectarlos en la época de lluvias.

Glicorresinas y glucósidos kauranólicos

Respecto a los perfiles de estos dos grupos de metabolitos secundarios, que junto con los alcaloides se consideran como característicos de la familia (Hegnauer, 1964 y Pérez-Amador et al., 1980), se emplearon como referencias para las resinas glicosídicas, un extracto de semillas de *Ipomoea murucoides* y una mezcla de resinas obtenida de raíz de *I. orizabensis*. Se consideraron dos resinas de *I. orizabensis* (1 y 2) y dos de *I. murucoides* (3 y 4) como marcadores. La resina 1 se encontró en tallos de *C. tinctoria* en ambas épocas, y en *C. corymbosa* de secas. La resina 2 se encontró en *C. americana* de secas y de lluvias, en *C. arvensis*, en *C. corymbosa* de secas y flores de *C. tinctoria* de la misma época. La resina 3 se detectó en *C. corymbosa* y flores de *C. tinctoria* de secas, y la resina 4 en *C. americana* de lluvias y tallos de *C. tinctoria* de secas (Fig. 9).

Comparando los perfiles cromatográficos de cada una de las especies en época de secas y de lluvias, para *C. americana* fueron iguales en ambas estaciones, en tanto que para las otras dos especies, *C. corymbosa* y *C. tinctoria*, los perfiles son diferentes.

En cuanto a los perfiles de glucósidos kauranólicos (Fig. 10), se tomaron como marcadores la turbicornina y corimbosina a partir de un extracto de semillas de *Turbina corymbosa*. Los dos marcadores se encontraron en *C. americana*, en ambas épocas, en *C. arvensis* se encontró sólo la corimbosina y en las otras especies no se detectaron los marcadores.

La comparación de los perfiles de la época de secas y de lluvias muestra que los de *C. americana* fueron idénticos, mientras que los de las otras dos especies fueron diferentes.

Determinación de perfiles cromatográficos de flavonoides

En los perfiles de flavonoides hay diferencia entre los correspondientes a las muestras colectadas en época de lluvias y en época de secas en *C. corymbosa* (Figs. 13 y 14) y *C. tinctoria* (Figs. 15 y 16); en *C. americana* son iguales (Figs. 11 y 12)

Comparando interespecíficamente los perfiles, solamente *C. tinctoria* y *C. arvensis* colectadas en época de lluvias tienen un perfil igual (Siguiendo tabla, en donde X = a las manchas observadas en los perfiles).

Mancha Nº	<i>Cuscuta americana</i>		<i>Cuscuta corymbosa</i>		<i>Cuscuta tinctoria</i>			<i>Cuscuta arvensis</i>
	Sequia	Lluvias	Sequia	Lluvias	Tallos Sequia	Lluvias	Flores Sequia	
1	X	X						
2	X	X	X		X	X	X	X
3	X	X						
4	X	X	X	X			X	
5			X			X		X
6			X			X		X
7			X			X		X
8				X			X	
9				X				
10					X			
11					X			
12					X		X	
13					X		X	
14						X	X	X
15							X	

Separación de compuestos del extracto etanólico

Con objeto de hacer una separación de compuestos, buscando sobre todo flavonoides y terpenos, se preparó un extracto etanólico de los tallos de las cuatro especies y de las flores de *C. tinctoria*; la separación se efectuó por cromatografía en columna, con el extracto de las flores de *C. tinctoria* por las razones expuestas en el inciso "Extracciones".

Al disolver el extracto etanólico seco en acetato de etilo para iniciar la cromatografía, precipitó un polvo cuyo perfil cromatográfico mostró que tenía los compuestos más polares (Fig. 20) y se guardó para un estudio posterior.

De la columna se eligieron para su estudio las fracciones 13 a 18 (Fig. 22), cuyo perfil cromatográfico indicaba la presencia de los compuestos que se deseaba separar, por las coloraciones que mostraron al revelarse con reactivo de Liebermann-Burchard (terpenos y esteroides) y de subacetato de plomo al 25% (flavonoides).

De estas fracciones, se corrió una placa con la 13, la 16 y, además, la 8 y β -sitosterol y lupeol como referencias. En el perfil de las tres fracciones se encontraron manchas con un R_f iguales al de estos dos compuestos (Fig. 21).

Comparando estos perfiles con los de las placas de control de las primeras fracciones de la cromatografía en columna, se vio que el lupeol se encontró en las fracciones 7 a 16 y el β -sitosterol en las fracciones 13 a 30.

La fracción 16 cristalizó y a pesar de que los cristales eran una mezcla de tres componentes principales (1, 2 y 3, Fig. 23) se intentó su separación por recristalización, pero sin lograrlo (Fig. 24), por lo que se reunió con las fracciones 13 a 18 para recromatografía.

En esta nueva cromatografía de los tres compuestos que se querían separar, el compuesto 3 se aisló de la fracción C y de las fracciones F y G, el 1 y 2 aún mezclados (Fig. 25). Estos tres

compuestos se recrystalizaron hasta obtener una sola mancha en placa delgada (Fig. 26) y se determinaron sus espectros en el ultravioleta, en el infrarrojo, de resonancia magnética nuclear y de masas.

Los espectros en el ultravioleta tienen máximos de absorción característicos de flavonas a 223, 285 y 325 para el compuesto C₂. Para el compuesto F₃ a 228, 290 y 335, y para el compuesto G₂ a 227, 292 y 334 (Figs. 29, 32, y 35).

Los espectros en el infrarrojo de los tres compuestos indican que se trata de glicósidos por la banda ancha de alcoholes a 3115 (Figs. 30, 33 y 36); este mismo resultado se confirma con la prueba de Mölish realizada para los compuestos (Tabla IX).

Los espectros de resonancia magnética nuclear indican que las muestras no están puras, sin embargo su perfil general concuerda para flavonas (Figs. 31, 34 y 37).

Los espectros de masas indican pesos moleculares de 302 para el compuesto C₂, 288 para el F₃ y 318 para el G₂.

Con los compuestos se corrieron placas de celulosa y gel de sílice. La placa de celulosa (Fig. 27) mostró que los compuestos F y G tienen un R_f de 9.24 y el compuesto C de 9.56; a la luz ultravioleta (365 nm) presentan una coloración ocre parda, que en la literatura (Harborne, 1991) se asigna a derivados de la apigenina. En la placa de gel de sílice (Fig. 28) el compuesto C tuvo un R_f de 5.59, el F de 3.66 y el G de 3.55. La primera placa se corrió en las condiciones que indica la literatura para confirmar la naturaleza de los flavonoides mostrada por la resonancia magnética nuclear (flavonas) y la segunda para situar las manchas en la zona de mediana polaridad y ver si los compuestos F y G son idénticos.

Con los datos espectrométricos y los obtenidos de las placas, se ve que los compuestos F y G son el mismo producto con diferente grado de pureza; el compuesto C es diferente y menos polar que el anterior y ambos parecen ser glucósidos de apigenina.

7. TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

TABLA I Rendimientos de la extracción hexánica en aparato de Soxhlet

Especie	Gramos extraídos		Extracto obtenido (g)		Rendimiento (%)	
	Sequía	Lluvias	Sequía	Lluvias	Sequía	Lluvias
<i>Cuscuta americana</i>	20	5	0.4907	0.0823	2.45	1.64
<i>Cuscuta arvensis</i>	/	2.3699	/	0.0641	/	0.15
<i>Cuscuta corymbosa</i>	20	5	0.9957	0.0924	4.97	1.84
<i>Cuscuta tinctoria tallos</i>	20	5	0.6887	0.114	3.44	2.28
<i>Cuscuta tinctoria flores</i>	20	/	0.6672	/	3.33	/

TABLA II Rendimientos de la extracción metanólica en aparato de Soxhlet

Especie	Gramos extraídos		Extracto obtenido (g)		Rendimiento (%)	
	Sequía	Lluvias	Sequía	Lluvias	Sequía	Lluvias
<i>Cuscuta americana</i>	20	5	8.9154	1.5987	44.5	31.9
<i>Cuscuta arvensis</i>	/	2.3699	/	0.4474	/	18.8
<i>Cuscuta corymbosa</i>	20	5	6.6379	0.7322	33.19	14.6
<i>Cuscuta tinctoria</i> Tallos	20	5	10.4507	1.568	52.25	31.7
<i>Cuscuta tinctoria</i> Flores	20	/	11.2538	/	56.2	/

TABLA III Resultados de las pruebas de metabolitos secundarios (S=sequía y L= lluvias, + a 4+ reacción positiva, - reacción negativa).

Prueba		<i>Cuscuta americana</i>	<i>Cuscuta arvensis</i>	<i>Cuscuta corymbosa</i>	<i>Cuscuta tinctoria</i>	
					Tallos	Flores
EXT. MET.		.	/	.	.	.
Alcaloides	S	.	/	.	.	.
Dragendorff	L	+	++	+	+	/
Alcaloides	S	-	/	-	-	lig +
Ac. Silicotungst.	L	+	++	+	+	/
Terpenos y	S	lig + verde	/	+ verde	lig + verde	lig + verde
Esteroides	L	-	-	-	-	/
Flavonoides	S	++ rosa	/	++ rosa	++++ rosa	+++ rosa
	L	+++ rosa	+++ rosa	+ rosa	++++ rosa	/
Glicósidos	S	++	/	+	++++	++
	L	++	-	+	-	/
EXT. HEX.		++ verde	/	+ verde	++ verde	+ verde
Terpenos y	S	++ verde	/	+ verde	++ verde	+ verde
Esteroides	L	++ verde	+ verde	+++ verde	++ verde	/

TABLA IV Rendimientos de la extracción etanólica en frío

Especie	Gramos extraídos		Extracto obtenido (g)		Rendimiento (%)	
	Sequía	Lluvias	Sequía	Lluvias	Sequía	Lluvias
<i>Cuscuta americana</i>	66	5	2.0736	0.1225	3.14	2.45
<i>Cuscuta arvensis</i>	/	0.120	/	0.0112	/	9.3
<i>Cuscuta corymbosa</i>	15	5	0.8725	0.1025	5.74	2.05
<i>Cuscuta tinctoria</i> Tallos	85	5	9.7685	0.3032	11.45	6.06
<i>Cuscuta tinctoria</i> Flores	44	/	9.000	/	20.4	/

TABLA V Fracciones resultantes de la primera cromatografía en columna de *Cuscuta tinctoria*

Nueva fracción	Fracciones	Eluyente	Apariencia	Total (g)
A	1-12	AcOEt	Sólido vítreo, amarillo pálido	0.033
B	13-15	AcOEt	Sólido amarillo	0.8830
F 16	16	AcOEt	Cristales amarillo pálido	0.4915
C	17-18	AcOEt	Sólido ceroso verde pálido	0.3477
D	19-32	AcOEt	Sólido ceroso amarillo	0.3267
E	23-28	AcOEt	Sólido ceroso amarillo	0.1714
F	29-40	AcOEt-MeOH 99.5:0.5	Sólido café claro	0.4618
G	41-49	AcOEt-MeOH 99:1	Sólido café claro	0.0684
H	50-57	AcOEt-MeOH 99:1	Sólido amarillo paja	0.0512
I	58-78	AcOEt-MeOH 97:3	Sólido amarillo	0.1029
J	79-88	AcOEt-MeOH 9:1	Sólido pardo	0.0599
K	89-100	AcOEt-MeOH 1:1	Sólido vítreo, pardo	0.2011
L	101-141	MeOH	Sólido café oscuro	0.4982

TABLA VI Cristales obtenidos de la fracción 16 de la primera cromatografía en columna

Muestra	Peso (g)	Punto de fusión (°C)
Cristales F16	0.2198	240-245

**TABLA VII Fracciones resultantes de la segunda cromatografía en columna de *Cuscuta*
*sinctoria***

Nuevas fracciones	Fracciones	Eluyente	Apariencia	Total (g)
A	8-16	Hex-AcOEt 7:3	Sólido ceroso verde claro	0.3806
B	17-36	Hex-AcOEt 7:3	Sólido vítreo, café claro	0.1868
C	37-57	Hex-AcOEt 7:3	Sólido amarillo pálido	0.1764
D	58-59	Hex-AcOEt 7:3	Sólido amarillo	0.0018
E	60-61	Hex-AcOEt 7:3	Sólido amarillo	0.0544
F	62-79	Hex-AcOEt 7:3	Sólido amarillo pálido	0.3273
G	80-96	Hex-AcOEt 7:3	Sólido amarillo pálido	0.2823
H	97-126	Hex-AcOEt 6:4	Sólido pardo	0.0864
I	127-140	Hex-AcOEt 6:4	Sólido pardo	0.652
J	141-212	Hex-AcOEt 2.5:7.5 y AcOEt	Sólido pardo	0.0951

TABLA VIII Recristalizaciones de las fracciones C, F y G

Fracción	Peso (g)	Apariencia	Punto de fusión (°C)
C	0.1764	Cristales amarillo pálido	250-252
C₁	0.1001	Cristales amarillo pálido	250-252
C₂	0.0696	Cristales amarillo pálido	250-252
F	0.3273	Cristales amarillo pálido	240-245
F₁	0.2558	Cristales amarillo pálido	240-245
F₂	0.1990	Cristales color crema	238-241
F₃	0.1139	Cristales color crema	238-241
G	0.2823	Cristales color crema	235-240
G₁	0.0774	Cristales color crema	235-240
G₂	0.0318	Cristales color crema	230-235

TABLA IX Reacciones para flavonoides y glicósidos de los compuestos C₂, F₃ y G₂

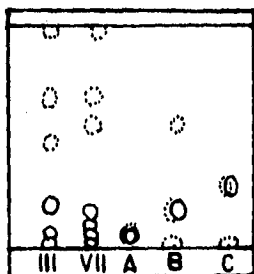
Fracción	Flavonoides Shinoda	Glicósidos Mólsh
C ₂	+++	lig +
F ₃	+++	+
G ₂	+++	+

SIMBOLOGIA CORRESPONDIENTE A LAS FIGURAS

Símbolo	Especie	Colecta
I	<i>C. americana</i>	enero
II	<i>C. americana</i>	septiembre
III	<i>C. arvensis</i>	julio
IV	<i>C. corymbosa stylosa</i>	enero
V	<i>C. corymbosa stylosa</i>	septiembre
VI	<i>C. tinctoria</i> tallos	enero
VII	<i>C. tinctoria</i> tallos	julio
VIII	<i>C. tinctoria</i> flores	enero
EI	Sistema de eluyentes utilizado	
Rev	Revelador(es) utilizado(s)	
UV	Luz ultravioleta (365 nm)	
Hex	Hexano	
AcOEt	Acetato de etilo	

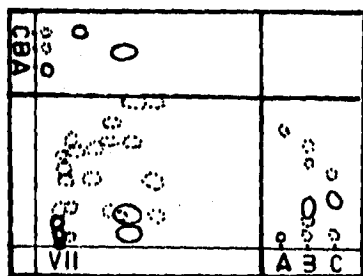
**FIGURAS
ALCALOIDES**

Fig. 1 Placa para verificar su presencia

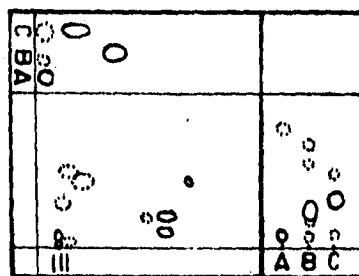


Para todas las placas de alcaloides: A = Amida del ác. lisérgico B = lisérgol
C = Ergotamina.
EL. Cloroformo-metanol 9:1
REV. UV y Van Urk

Figs. 2 y 3 Placas bidimensionales de prueba



Cuscuta tinctoria (VII)
El. Cloroformo-metanol 9:1 ↑
Cloroformo-dietilamina 9:1 →
Rev. UV y Van Urk



Cuscuta arvensis (III)
El. Cloroformo-metanol 9:1 ↑
Cloroformo-dietilamina 9:1 →
Rev. UV y Van Urk

CROMATOGRAFÍAS BIDIMENSIONALES DE ALCALOIDES

Fig. 4 *Cuscuta americana*

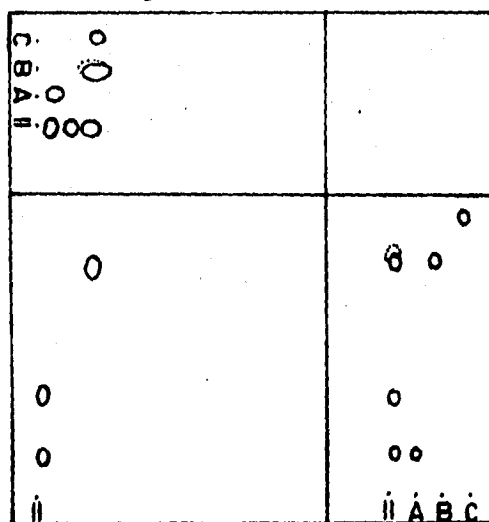
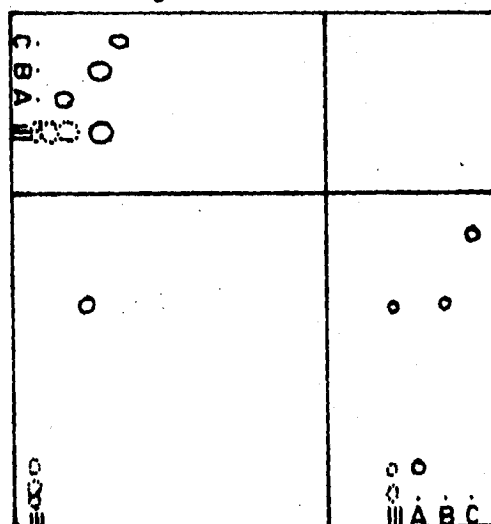


Fig. 5 *Cuscuta arvensis*



El. Cloroformo-metanol 9:1 ↑, Cloruro de metileno:isopropanol 3:1 ↑
 Benceno-dimetilformamida 86.5:13.5 →; Rev. UV y Van Urk.

CROMATOGRAFIAS BIDIMENSIONALES DE ALCALOIDES

Fig. 6 *Cuscuta corymbosa*

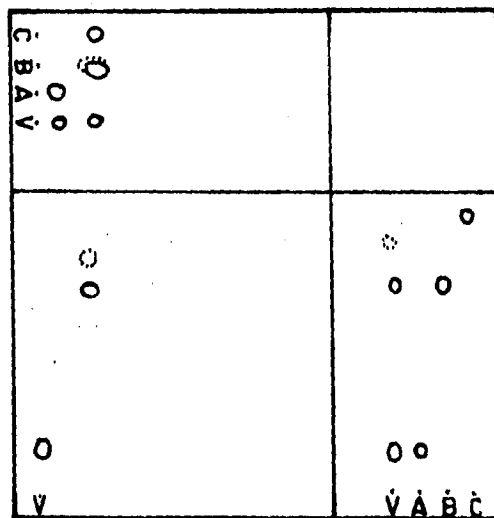
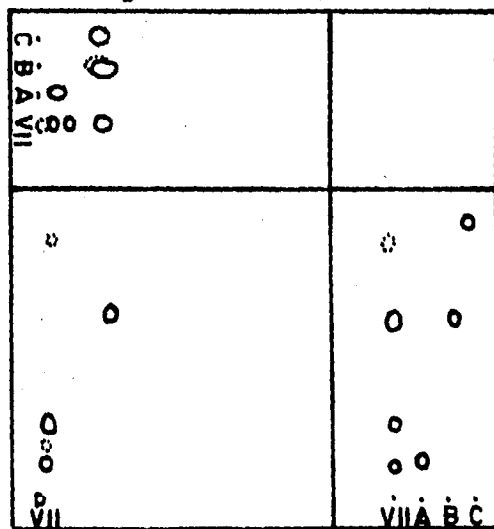
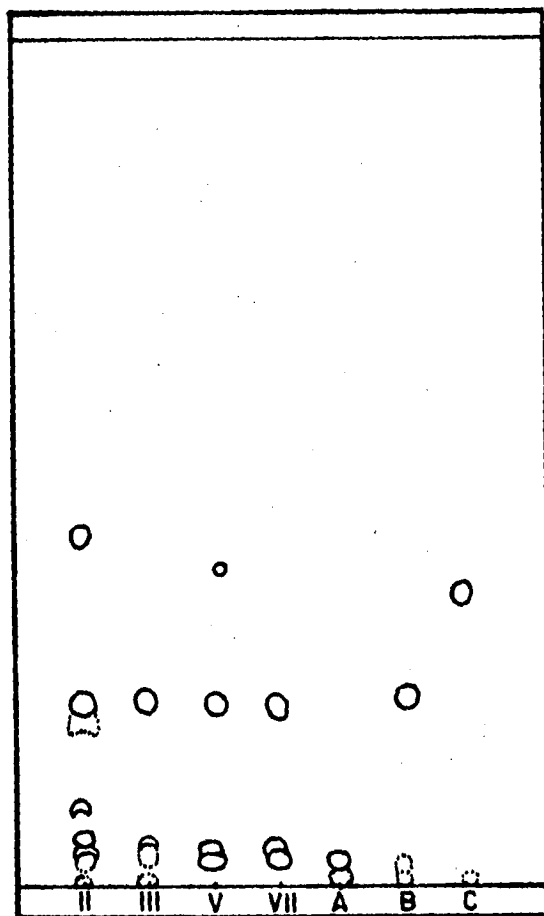


Fig. 7 *Cuscuta tinctoria* tallos



El.: Cloroformo-metanol 9:1 ↑, Cloruro de metileno-isopropanol 3:1↑
 Benceno-dimetilformamida 86.5:13.5 →; Rev. UV y Van Urk.

Fig. 8 Cromatografía unidimensional de alcaloides



II *Cuscuta americana* III *Cuscuta arvensis* V *Cuscuta corymbosa*

VII *Cuscuta tinctoria*

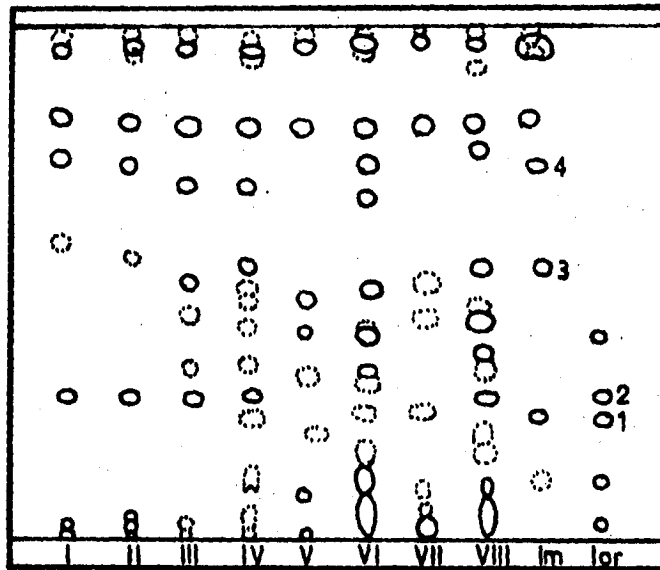
A = Amida del ác. lisérgico B = lisérgol

C = Ergotamina

El. Cloroformo-metanol 9:1

Rev. UV y Van Urk

Fig. 9 Perfiles cromatográficos de resinas glicosídicas



I a VIII muestras de *Cuscuta* (ver simbología al inicio del apartado de figuras)

Im = *Ipomoea murucoides*

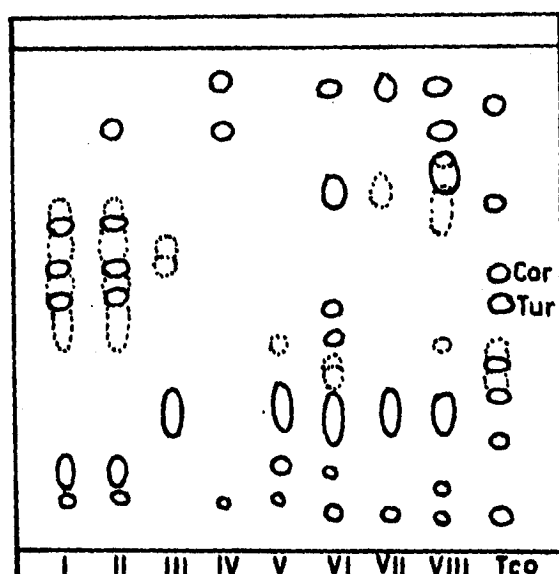
Ior = *Ipomoea orizabensis*

1, 2, 3 y 4 resinas de referencia

El. Cloroformo-metanol 9:1

Rev. UV y Sulfato cérico

Fig. 10 Perfiles cromatográficos de glucósidos kaurónicos



I a VIII muestras de *Cuscuta* (ver simbología al inicio del apartado de figuras)

Tco. *Turbina corymbosa*

Cor = corimbosina

Tur = turbicorina

El. Butanol-ác. acético-agua 5:1:4

Rev. UV y Sulfato cérico

PERFILES CROMATOGRÁFICOS DE FLAVONOIDES

Fig. 11 *Cuscuta americana* sequia

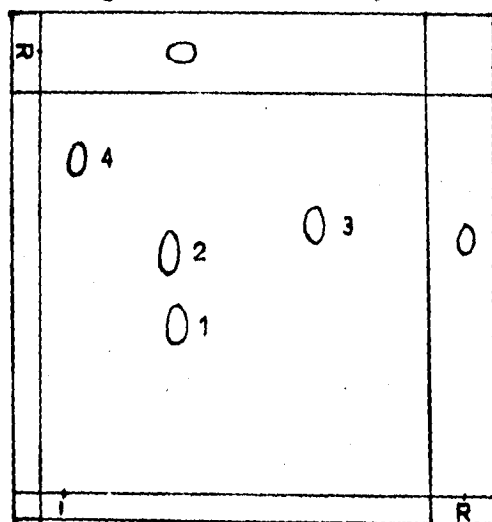
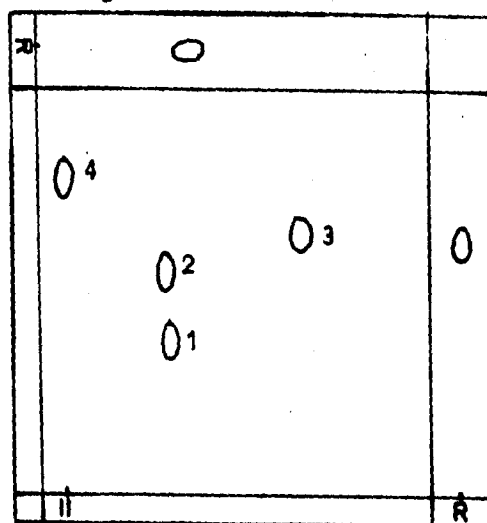


Fig. 12 *Cuscuta americana* lluvias



R = Rutina. El. Terbutanol-ác. acético- agua 3:1:1 ↑, Ac. acético al 15 % →
Rev. UV e Hidróxido de amonio

PERFILES CROMATOGRAFICOS DE FLAVONOIDES
FIG. 13 *Cuscuta corymbosa* sequia

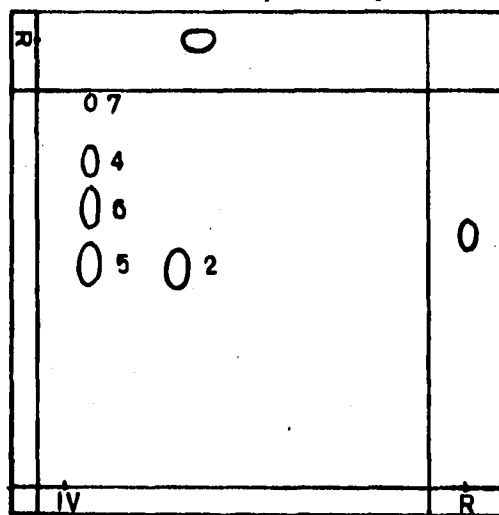
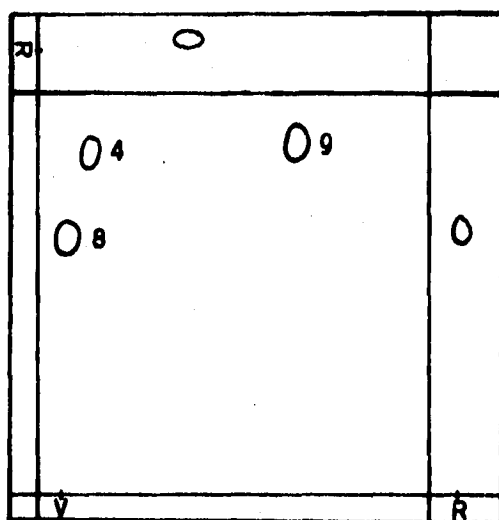


FIG. 14 *Cuscuta corymbosa* lluvias



R = Rutina. El. Terbutanol-ác. acético-agua 3:1:1 ↑ , Ac. acético al 15% →
 Rev. UV e Hidróxido de amonio

PERFILES CROMATOGRÁFICOS DE FLAVONOIDES

FIG. 15 *Cuscuta tinctoria* tallos (sequia)

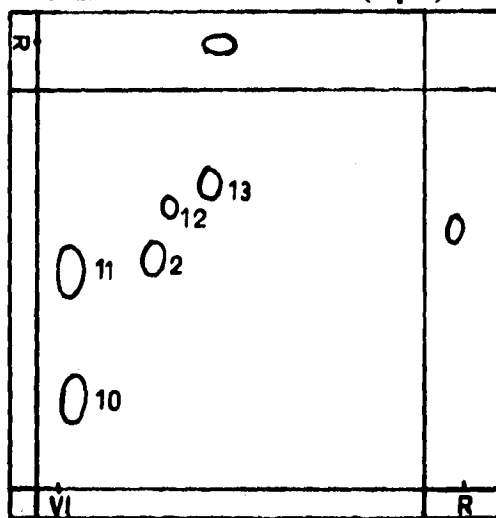
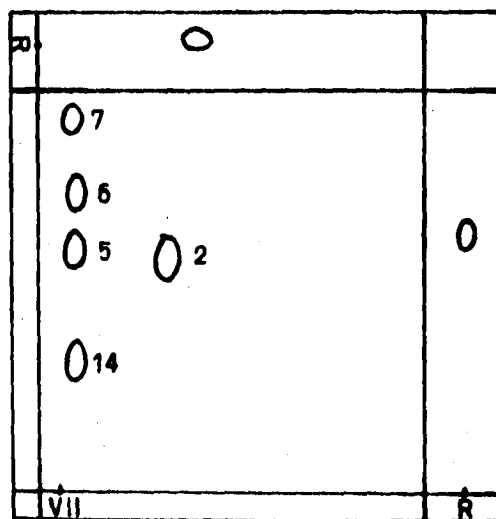


FIG. 16 *Cuscuta tinctoria* tallos (lluvias)



R = Rutina. El. Terbutanol-ác. acético-agua 3:1:1 ↑, Ac. acético al 15% →
Rev. UV e Hidróxido de amonio

PERFILES CROMATOGRAFICOS DE FLAVONOIDES

FIG. 17 *Cuscuta tinctoria* flores (sequia)

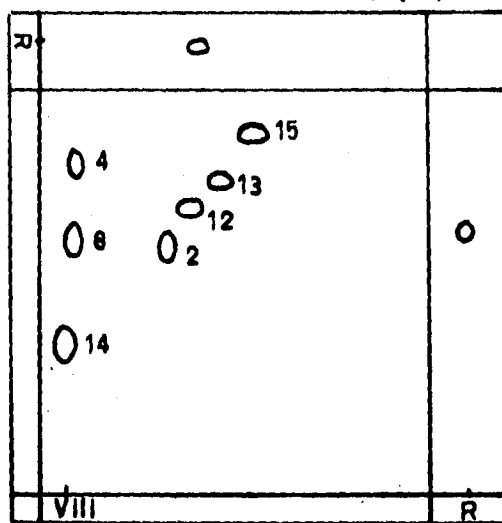
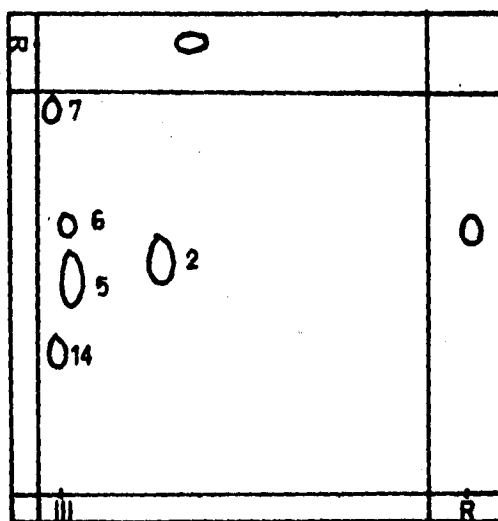
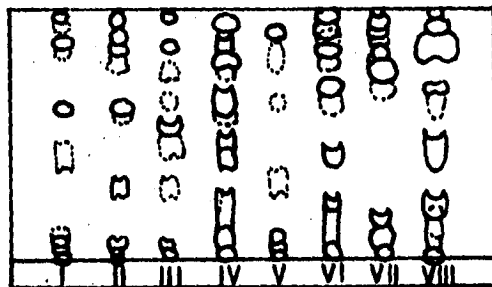


FIG. 18 *Cuscuta arvensis* lluvias



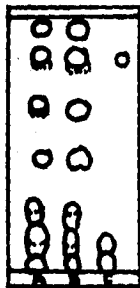
R = Rutina. El. Terbutanol-ác. acético-agua 3:1:1 ↑, Ac. acético al 15% →
Rev. UV e Hidróxido de amonio

PLACAS DEL EXTRACTO ETANOLICO
Fig. 19 Placa por duplicado con todas las muestras



El. Acetato de etilo
 Placa 1: Rev. UV y Liebermann-Burchard
 Placa 2: Rev. UV y Reactivo de subacetato de plomo

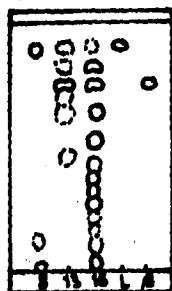
Fig. 20 Placa comparativa del extracto crudo (A), extracto disuelto en AcOEt (B) y su precipitado (C).



El. Acetato de etilo
 Rev. UV y Liebermann-Burchard

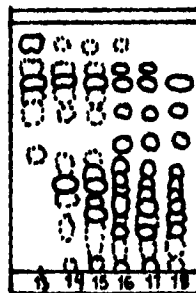
PLACAS DE LAS FRACCIONES CROMATOGRAFICAS DEL EXTRACTO ETANOLICO

Fig. 21 Fracciones 8,13,16, Lupeol (L) y β -sitosterol (β)



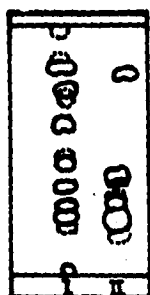
El. Hex-AcOEt 6:4
Rev. UV y Liebermann-Burchard

Fig. 22 Fracciones 13 a 18 de la primera cromatografía



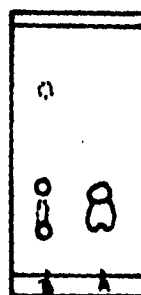
El. Hex-AcOEt 6:4
Rev. UV y Liebermann-Burchard

Fig. 23 Cristales (I) y Aguas madres (II) de la fracción 16



El. Hex-AcOEt 6:4
Rev. UV y Liebermann-Burchard

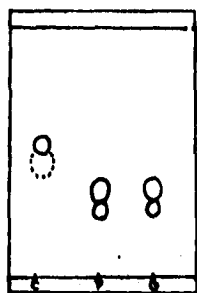
Fig. 24 Recristalización de los cristales de la fracción 16



Cristales (A), Aguas madres (B)
El. Hex-AcOEt 6:4
Rev. UV y Liebermann-Burchard

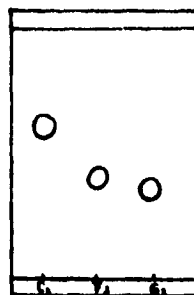
PLACAS DE LAS FRACCIONES C, F Y G

Fig. 25 Fracciones C, F y G de la segunda cromatografía



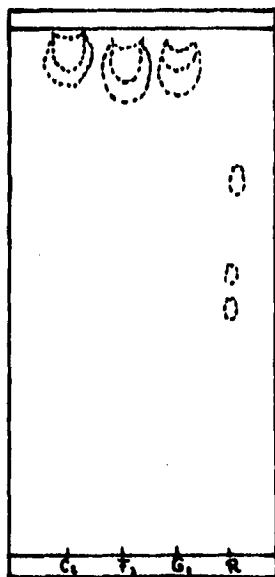
El. Hex-AcOEt 1:1
Rev. UV y Liebermann-Burchard

Fig. 26 Fracciones C₂, F₃ y G₂



El. Hex-AcOEt 1:1
Rev. UV y Liebermann-Burchard

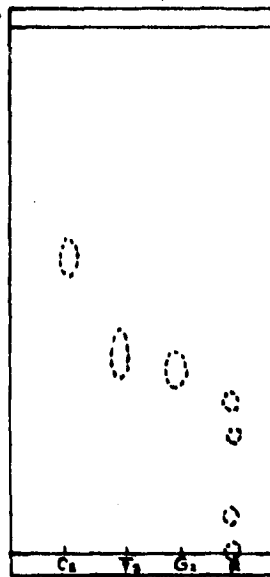
Fig. 27 Placa de celulosa



El. Butanol-ácido acético-agua 4:1:5

Para ambas placas (27 y 28) Rev. UV y Subacetato de plomo. R= Rutina

Fig. 28 Placa de gel de sílice



El. Hex-AcOEt 1:1

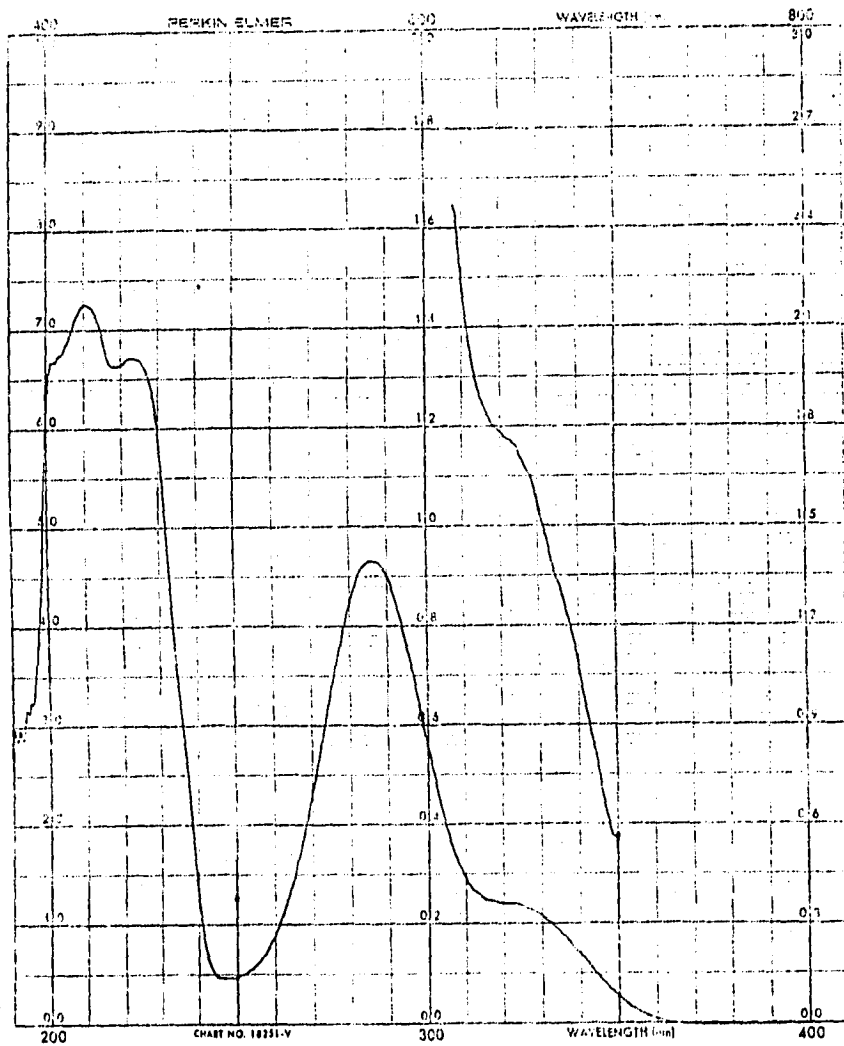


Fig. 29 Espectro de ultravioleta del compuesto C₂

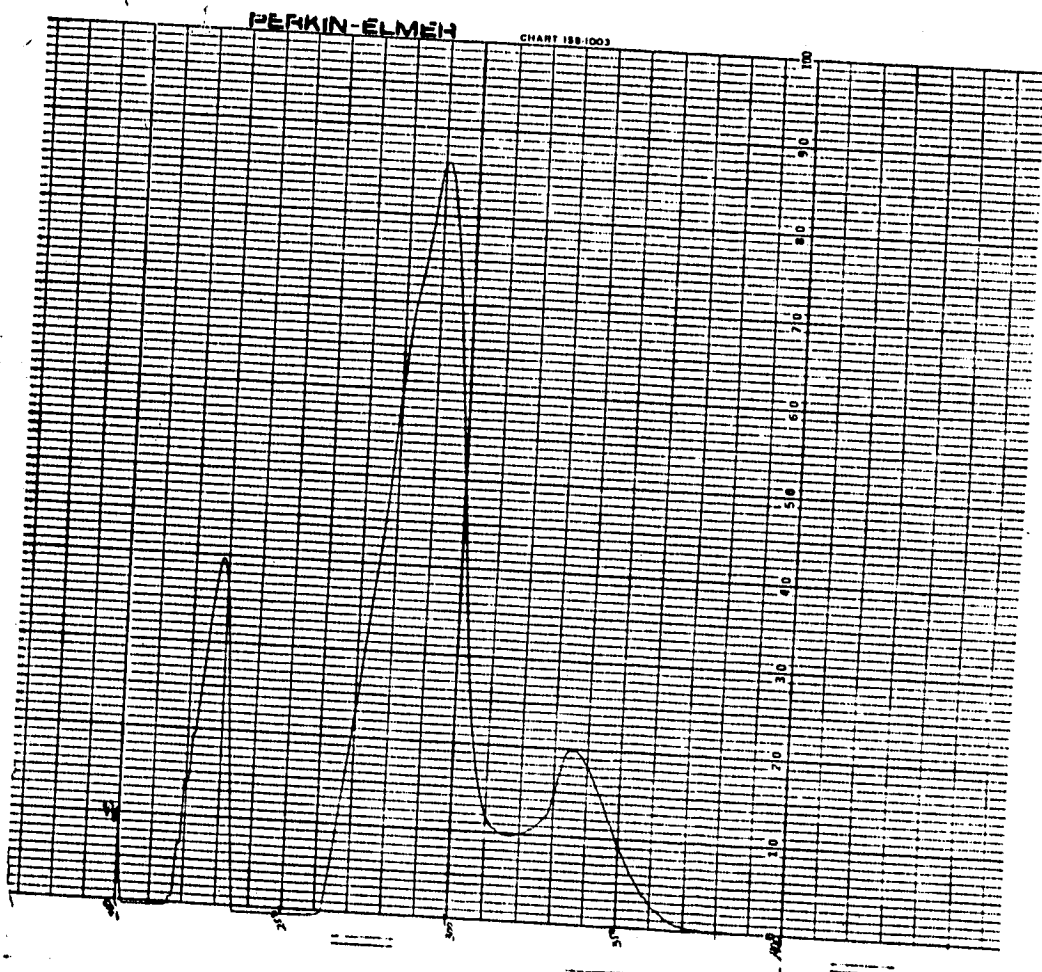


Fig. 32 Espectro de ultravioleta del compuesto F₃

DR. T. GONZ. GONZ. DE
I.A.S.A. INSTITUTO TECNOLÓGICO

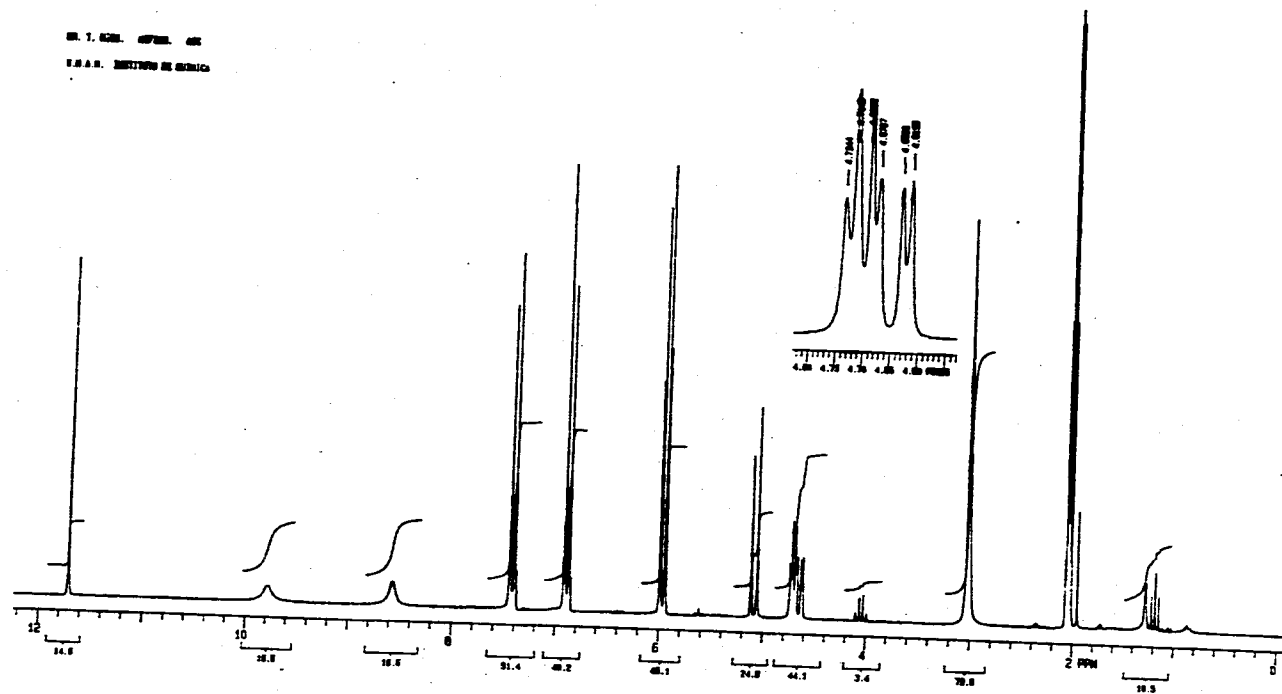


Fig. 33 Espectro de infrarrojo del compuesto E₃

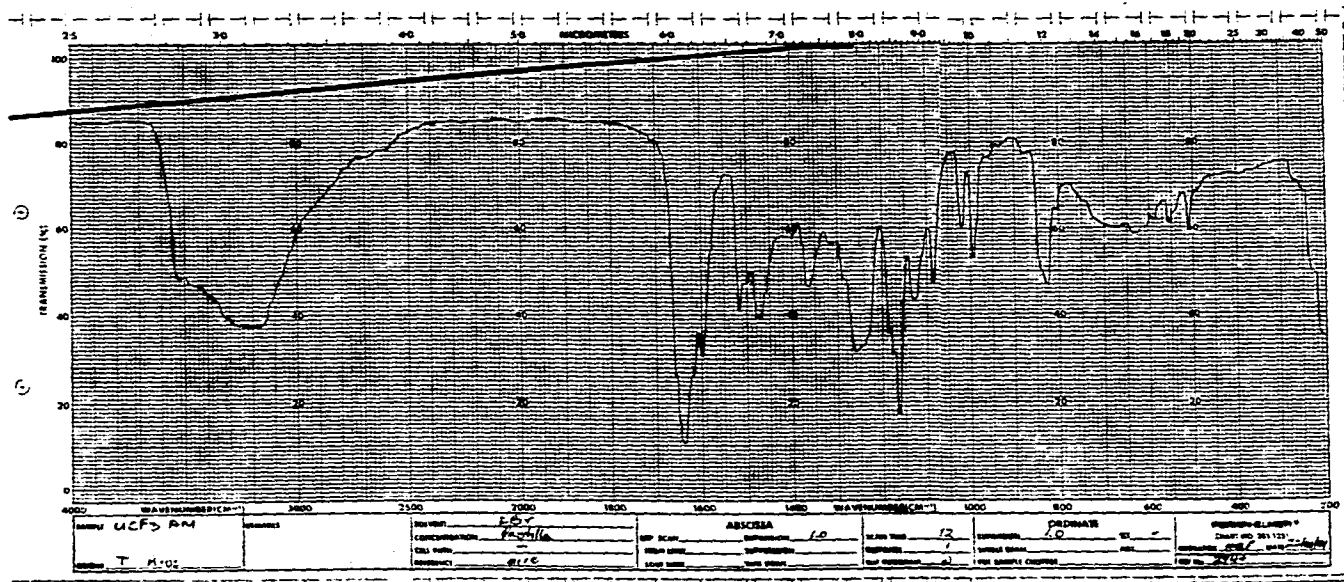
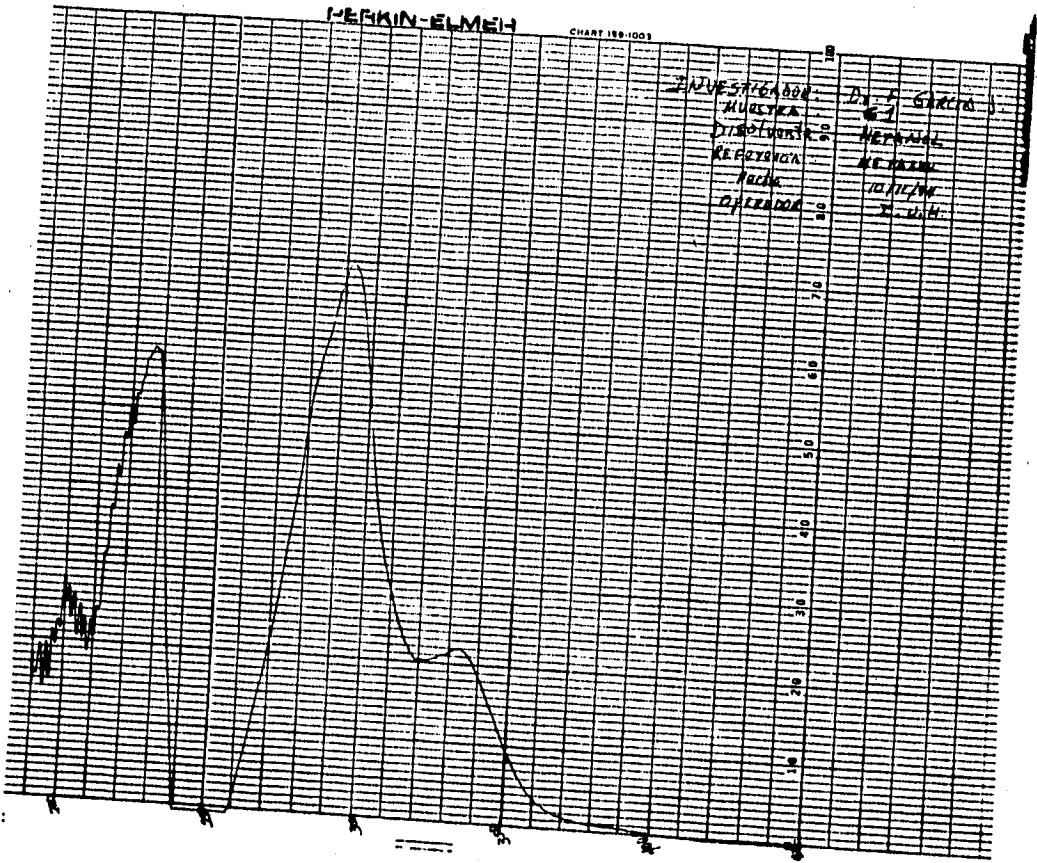


Fig. 34 Espectro de resonancia magnética del compuesto F₃

PERKIN-ELMER

CHART 189-1003



Ultravioleta del compuesto G₂

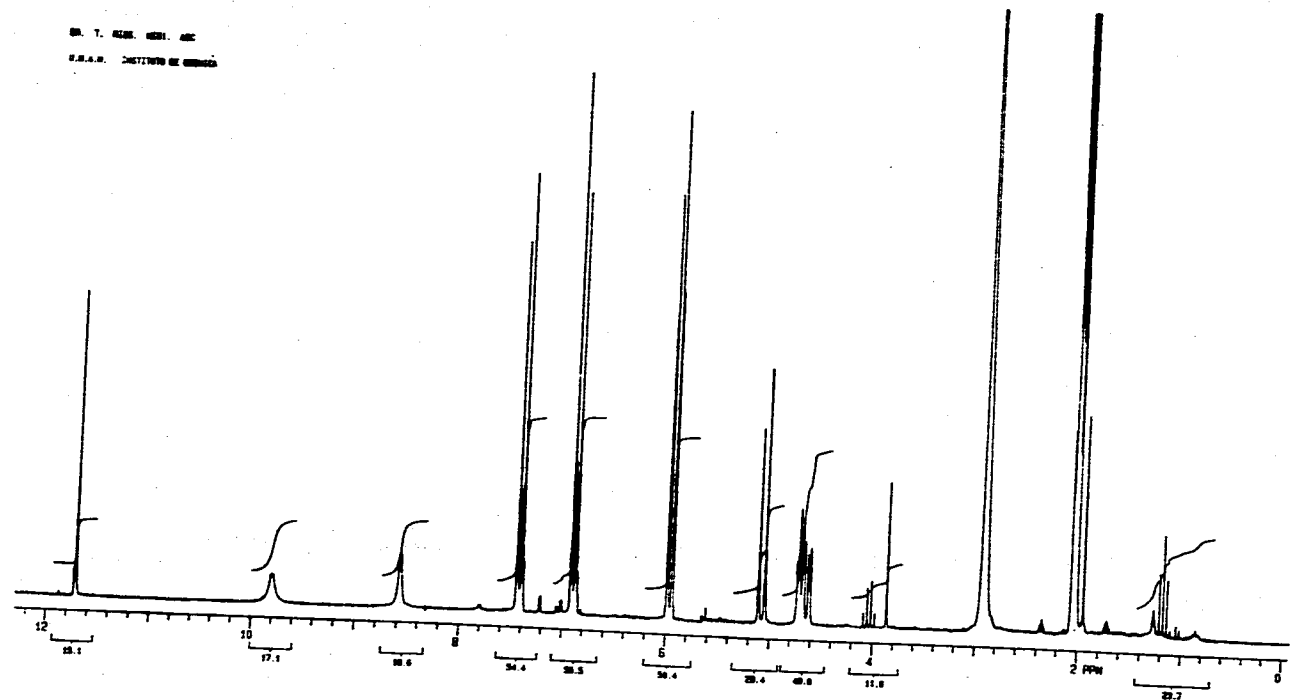


Fig. 36 Espectro de infrarrojo del compuesto G₂

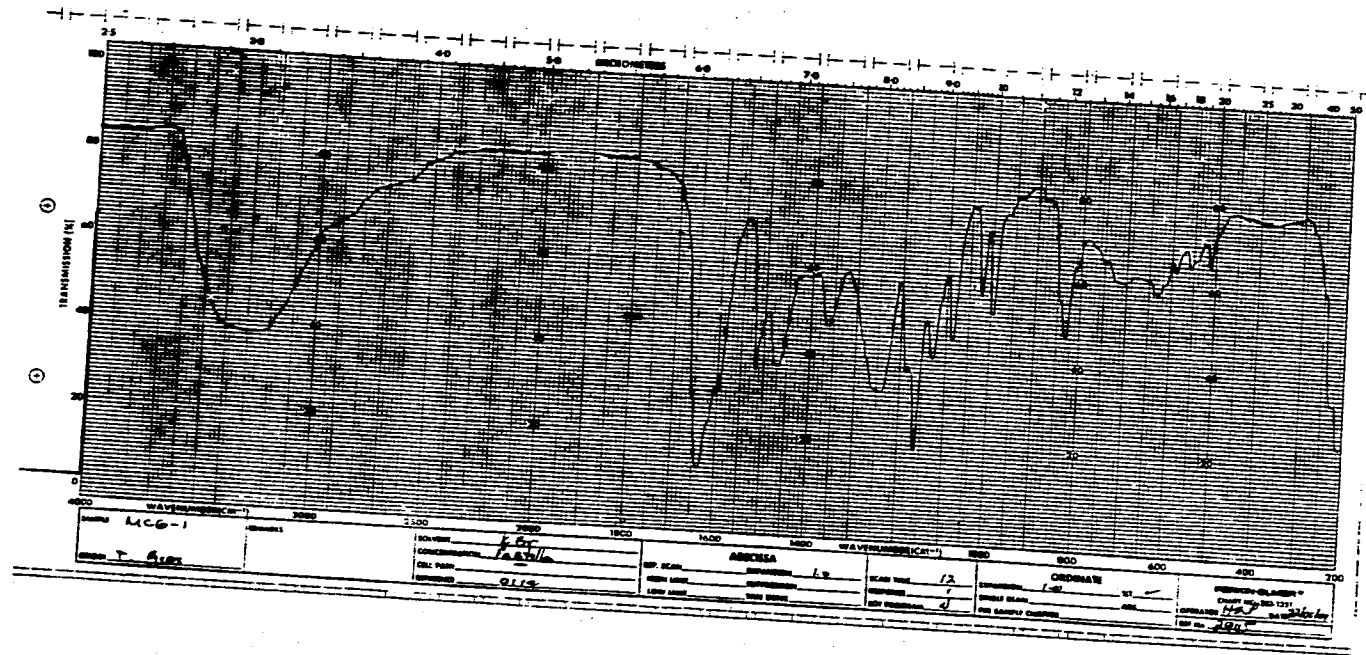


Fig. 37 Espectro de Resonancia Magnética del compuesto G₂

8 CONCLUSIONES

1.- Se confirmó la presencia de alcaloides en todas las muestras estudiadas y colectadas durante la época de lluvias. Las muestras colectadas en la época de sequía no presentaron estos compuestos.

2.- En el estudio comparado entre las cuatro especies, los perfiles de glucósidos kauránicos, glicorresinas y flavonoides fueron diferentes en las dos épocas. Sin embargo, por especie *C. americana* tuvo siempre perfiles iguales en ambas estaciones, en tanto que las otras dos especies (*C. corymbosa* y *C. tinctoria*) presentaron perfiles diferentes según la estación.

3.- Los dos compuestos aislados son de naturaleza flavonoidica, probablemente glicósidos de apigenina.

9 APENDICE

Reactivo de Dragendorff

Se disuelven 8 g de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ en 20 ml de HNO_3 al 30% y 27.2 g de KI en 50 ml de agua. Se mezclan ambas soluciones y se dejan reposar 24 h después de las cuales se decanta la solución y se afora a 100 ml (Domínguez, 1973).

Reactivo del ácido silicotúngstico

Se disuelven 5 g de ácido silicotúngstico ($4 \text{H}_2\text{O} \cdot \text{SO}_2 \cdot 12\text{WO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) en ácido sulfúrico 6 N necesario para formar 100 ml de solución (Domínguez, 1973).

Reactivo de Van Urk

Se agregan 125 mg de p-dimetilaminobenzaldehído (PDAB) en 100 ml de solución de ácido sulfúrico al 65% y 0.05 ml de Cloruro férrico al 5%.

Sulfato cérico

Se mezclan 360 g de hielo y 40 ml de H_2SO_4 y al terminar de adicionar el ácido se calienta la mezcla a 40°C , después se adiciona el $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ a disolución. Se guarda en un frasco oscuro.

Reactivo de Liebermann-Burchard modificado para rociar

Adicionar ácido acético y anhídrido acético en proporción 1:1 en 10 partes de etanol. Este reactivo se debe preparar en el momento en que va a ser utilizado.

Solución acuosa de subacetato de plomo al 25 %

Con este reactivo se rocía la placa y se revela con luz ultravioleta de onda larga (365 nm)

(Horhammer, 1964).

10 BIBLIOGRAFIA

- Agrawal, R.R. & Dutt, S. 1935. Chemical examination of *Cuscuta reflexa* . I. The constituyentes. J. INDIAN CHEM. SOC. 12: 384
- Agrios, N.G. 1978. Plant pathology. 2nd. edition. Academic Press Inc. USA.
- Ahlawat, Y. S. & Dihingra, K.L. 1973. Dodder transmission of some temperate fruit tree viruses. INDIAN PHYTO- PATHOL. 26(4): 748
- Ahmad, M. 1973. Studies on a whitefly-transmitted yellow mosaic of urd bean (*Phaseolus mungo*). PLANT DIS. REP. 59(9): 880-802
- Akbar, S., Nisa, M. & M. Tariq. 1985. Central nervous system depressant activity of *Cuscuta chinensis* . INT J. CRUDE DRUG RES. 23(2): 91-94
- Anderson, D.M. 1974. Some species of *Smicronix* (*Coleoptera :Cucurlinidae*) associated with *Cuscuta* species (*Convolvulaceae*) in Pakistan. PROC. ENTOMOL. SOC. WASH. 26(4): 359-374
- Arreola, G.L. 1992. Anatomía reproductiva, histoquímica y fitoquímica de algunas especies de *Cuscuta* L. (*Cuscutae*) del Valle de México. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias. UNAM.
- Awasthi, L.P. 1981. The purification and nature of an antiviral protein from *Cuscuta reflexa* ARCH. VIROL. 70(3): 215-224
- Baccarini, A. 1965. Carotenoid pigments in the stem of *Cuscuta australis*. PHYTOCHEMISTRY. 4(2): 349-351

- Baccarini, A. 1966. Autotrophic incorporation of $^{14}\text{CO}_2$ in *Cuscuta australis* in relation to its parasitism. EXPERIENTIA. 22: 46-47
- Balaraman, K. & K. Ramakrishnan. 1979. Transmission studies with strains of *Citrus tristeza* virus on acid lime. Z. PFLAZENKR. PFLANZENSCHULTZ. 86(11): 653-661
- Barton, A.R. 1956. The classification of flowering plants. Vol. II. Dicotyledons. Cambridge at the university Press. London.
- Breitweiser, K. 1943. Plants and their suitability as laxatives II. *Cuscuta europea* L. (dodder). DEUT. APOTH-ZTG. 58 N° 49150. DEUT HEIL.PLANZE. 33-4
- Carraro, L. 1991. Transmission characteristics of the clover phyllody agent by dodder. I. PHYTOPATHOL. (Berl) 133(1): 15-22
- Chadeaud, M. & Emberger, L. 1960. Les vegetaux vasculaires Fascicule II. Traité de Botanique. (Sistematique). Mason et Cie. edituers. Paris. 1539 pp.
- Chiang, F. 1989. La taxonomía vegetal en México. Problemas y Perspectivas. CIENCIAS Número especial 3:3-4
- Corrette, K. B. & Neunzig, H.H. 1979. Descriptions of and notes on larval habitats of 4 immature phycitines in the Southeastern USA (*Lepidoptera: Pyralidae*) ANN ENTOMOL. SOC. AM. 72 (5): 690-699
- Cronquist, A. 1988. The evolution and clasification of flowering plants. 2nd. edition. The New York Botanical Garden. USA.
- Czygan, F.C., Weissinger, B. & Warmuth, K. 1988. *Cuscuta* and its property to take up and to acumulate alkaloids of the host plant. BIOCHEM. PHYSIOL. PFLANZ. (BPP) 183(6) 495-501

- Dandapani, M. & Nagarajan, S. 1989. Isorhamnetin 3-O-neohesperidoside from *Cuscuta reflexa*. INDIAN J. CHEM. SECT. B. ORG. CHEM. INCL. MED. CHEM. 28(7):606-607
- De la Sota, E.R. 1967. La taxonomía y la revolución de las ciencias biológicas. Programa regional de Desarrollo científico y tecnológico. Depto. de asuntos científicos. Secretaría general de la OEA. Washington, DC.
- Dinelli, G., Bonetti, A. & Tibiletti, E. 1993. Photosynthetic and accessory pigments in *Cuscuta campestris* Yuncker and some host species. WEED RESEARCH 33:253-260
- Domínguez, A.J. 1973. Métodos de investigación fitoquímica. Ed. Limusa. México.
- Engler, H.G.A. 1964. Syllabus der pflanzenfamilien. Vol. 2 12th. edition. revised by Melchior Gebrüder. Borntraeger. Berlin.
- Fanh, A. 1989. Plant anatomy. 3th. edition. Pergamon Press. Republic of Singapore.
- Fer, A. 1981. Transport pathways involved in nutrient supply of a phanerogamic parasitic: Study with detached leaves parasited by *Cuscuta lupuliformis*. PHYSIOL. VEG. 19(2): 177-196
- Font, Q.P. 1961. Plantas medicinales. el Dioscórides renovado. Editorial Labor. España.
- Ghosh, B. 1987. Some unreported medicinal uses of plants used by the tribals of District Begusarai, Bihar. J. ECON. TAXON. BOT. 10(1): 187-190
- Gilani, H.A. & Aftab, K. 1992. Pharmacological actions of *Cuscuta reflexa*. INT. J. PHARMACOG. 30(4): 296-302
- Gros, G.E., Pomilio, B.A. Seldes, M-A. & Burton, G. 1985. Introducción al estudio de los productos naturales. Ed. OEA. Washintong D:C. 146 pp.

- Harborne, J.B. 1991. Phytochemical methods. 2 nd edition. Chopinan and Hall. Londres.
- Hegnauer, R. 1964. Chemotaxonomie der pflanzen. Birkhäuser Verlag, III. 554 y 561 pp.
- Hibben, C.R. et al. 1990. Relatness of mycoplasma-like organisms associated with ash yellows and lilac witches broom. PLANT DIS. 75(12): 1227-1230
- Hörhammer, L., Wagner, H. & K. Hein. 1964. Kieselgel-Dünnschichtchromatographie von flavonoides. J. OF CHROMAT. 13: 235-237
- Husain, S. & Anwar, M. 1976. Nematicidal action of plant extracts on plant parasitic nematodes. GEOBIOS (JODHPUR) 2(2/3): 75-76
- Hutchinson, J.M. & Floyd, M.A. 1979. Effect of desiccation and scarification on the permeability and structure of the seed coat of *Cuscuta campestris*. AM. J. BOT. 66(1): 40
- Ikan, R., E. Rapaport & E.D. Bergmann. 1968. The presence of agroclavine in *Cuscuta monogyna* seeds. ISRAEL J. OF CHEM. 6:65-67
- Jauch, C. 1985. Patologia Vegetal. Ed. Ateneo. 3ª edición. Buenos Aires. 130-131 pp.
- Kelly, K.C. 1990. Plant foraging: A marginal value model and coiling response in *Cuscuta subinclusa*. ECOLOGY 71(5): 1916
- Kumar, M. & Kumar, R.M. 1963. Chemical examination of *Cuscuta reflexa*. INDIAN J. CHEM. 1(11): 499-500
- Kuoh, C.S. & Chiang, S.H. T.1989. Host plants and the haustorium of *Cuscuta japonica* Choisy var. *formosa* (Hay) Yuncker (*Convolvulaceae*). TAIWANIA 34(1): 11-26
- Lawrence, H.M. 1951. Taxonomy of vascular plants. Part II. Dicotyledonea. Mc Millan publishing Co. Inc. New York. 676-8 pp.

- Lyndon, M.F. 1970. Manual of botany Gray's. 8 th. edition. D. Van Nostrand Co.
- Luspha, O.U. & Atalykova, F.M. 1970. Chemical composition of parasitic plants of Kazakhstan. IZU. AKAD NAUK KAZ SSR SER BIOL. 8(1): 30-4
- Mahmood, Y. 1979. Effect of some plant extracts on the mortality of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis*. ACTA BOT INDICA 7(2): 129-132
- Mandrile, L.E. & Bongiorno, G. 1990. Principios activos naturales con acción alucinógena VIII. Alcaloides derivados de la ergolina. Su presencia en especies de *Convolvulaceae*. ACTA FARM BONAERENSE 9(1): 41-52
- Melkania, N.P. 1989. On the fanerogamic parasites in Central Himalaya. J. ECON BOT 13(1): 231-235
- Metcalfe, C.R. & L. Chalk. 1950. Anatomy of Dicotyledons Vol. II. Oxford at the Clearendon Press. England.
- Mishra, S. & Sanwal, G.G. 1992. Alterations in lipid composition of seed oil from *Brassica juncea* upon infection by *Cuscuta reflexa*. J. AGRIC FOOD CHEM 40: 52-55
- Nair, G.G., Daniel, M. & Sabins, S.D. 1987. Ergolines in the seeds of some Indian *Convolvulaceae*. INDIAN J. PHARM SCI 49(3): 100-102
- Nagar, R., M. Singh & G.G. Sanwal. 1984. Cell wall degrading enzymes in *Cuscuta reflexa* and its host. J. EXP BOT 35(157): 1104-1112
- Nisa, M., Tariq, M. & Akbar, S. 1985. Effect of *Cuscuta chinensis* Lamk (Afimum) on carbon tetrachloride-induced liver damages. JRCS MED SCI 11(2): 150
- Nisa, M., S. Akbar., M. Tariq & Z. Hussain. 1986. Effect of *Cuscuta chinensis* water extract on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced skin papilomas and carcinomas in mice.

I. ETHNO-PHARMACOL 28(1): 21-32

- Pagani, F. & G. Ciarallo. 1974. New flavonoids from *Cuscuta epithymum* (Convolvulaceae). BOLL. CHIM. PHARM. 113(1): 30-5
- Pérez-Amador, M.C., A. González, J. Marquez, J. Bailin, F. García Jimenez. & O. Collera. 1980. Perfiles cromatográficos de semillas de algunas especies de Convolvulaceas. PHYTON 39: 85
- Rao, V.S.N., P. Dasaradhan & K.S. Krishnaiah. 1979. Antifertility effect of some indigenous plants. INDIAN J. MED RES 70(sept): 517-20
- Robinson, R.D., L.A.D. Williams, J. F. Lindo, S. Y. Terry & Mansingh, A. 1990. Inactivation of *Strongyloides stercoralis* filariaform larvae in vitro by six Jamaican plant extracts and three commercial anthelmintics. WEST INDIAN MED J. 39(4): 213-217
- Rzedowski, J. & G.G. Rzedowski. 1985. Flora fanerogámica del Valle de México. Vol. II. Dicotyledoneae (Euphorbiaceae, Compositae) Inst. Nac. de Ciencias Biol. I.P.N. Inst. Ecología. México, D.F.
- Stace, C.A. 1984. Plant taxonomy and biogeography. Ed. Edward Arnold. Australia.
- Stojanovic, D. & B. Boric. 1981. Mycoflora of parasitic phanerogams from the genera *Cuscuta* and *Orobancha*. ZAST BILJA 32(156): 135
- Strassburger, E., F. Noll, H. Schenck & A.F.W. Schimper. 1988. Tratado de botánica. 7ª edición Ed. Omega. Barcelona, España.
- Stueesy, F.T. 1990. Plant taxonomy. The systematic evaluation of comparative data. Columbia University Press. New York. USA.
- Subramanian, S.S. & A.G.R. Nair. 1963. Chemical components of *Cuscuta reflexa*.

INDIAN J. CHEM. 1(11): 501-502

- Subramanian, S.S. & A.G.R. Nair. 1964. Isolation of mannitol from *Cuscuta reflexa*. INDIAN J. CHEM. 2(2): 81-82
- Subramanian, S.S. & A.G.R. Nair. 1966. Occurrence of mangiferin in *C. reflexa* growing on *Mangifera indica*. INDIAN J. CHEM. 4(7): 335-336
- Taiz, L. & Zeiger, E. 1991. Plant physiology. The Benjamin/ Cummings publishing. Company Inc. Redwood city. California. USA.
- Tronchet, J. 1962. Comparision por chromatographie sur papier du contenu en flavonoides de tiges libres et de spires haustoriales de *Cuscuta japonica*. ANN SCI UNIV. BESANCON BOTAN. (2) N° 18: 101
- Tsivion, Y. 1978. Possible role of cytokinins in nonspecific recognition of a host and in early growth of haustoria in the parasitic plant, *Cuscuta campestris*. BOT GAZ 139(1): 27-31
- Umarov, A. & Khalmatov, Kh.Kh. 1972. Phytochemical study of *Cuscuta monogyna*. Mater Yubilenic Resp. Nauchn. Kanf. Farm. Posuyashch. 50-Letiye Obraz. SSSR Sep. 1972 (Publ. 1972): 101-2. Edited by Khalmatov, Kh.Kh. Tashk. Gos. Med. Inst. Tashkent, USSR.
- Verma, H.N., L.P. Awasth & K. Murkenjee. 1979. Induction of systemic resistance by antiviral plants extracts in nonhypertensive host. Z PFLANZENKR PFLANZENCHULTZ 86(12): 735-40
- Walker, J.C. 1975. Patologia vegetal. Ed. Omega. Barcelona, España.
- Wilkinson, R.E., Hardcastle, W.S. & Mc Cormick, C.S. 1986. CAN J. PLANT SCI. 66:

339-343

- Wink, M. & Witte, L. 1993. Quinolizide alkaloids in *Genista acantoclada* and its holoparasite, *Cuscuta palaestina*. J. CHEM ECOL 19(3): 441-448
- Xiao, L. & Jiaoshi, L. 1992. Flavonoids in the seeds of *Cuscuta chinensis* Lam. ZHONGGUO ZHONGYAO ZAZHI 17(5): 292-294
- Yuncker, T.G. 1932. The genus *Cuscuta*. MEM. TORR. BOT. CLUB 18(2): 113-331