



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

“ESTUDIO DEL CONTENIDO DE ALCALOIDES DE  
*Pachycereus hollianus* y *P. fulviceps*  
Y SUS IMPLICACIONES QUIMIOTAXONÓMICAS”

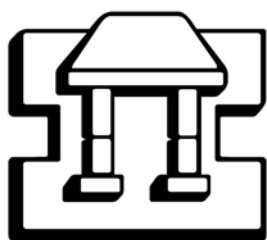
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A :

**MARÍA ROSA MANCILLA RAMÍREZ**



DIRECTOR DE TESIS: Dr. CÉSAR MATEO FLORES ORTÍZ

LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA.

2006



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## *Dedicatoria*

*A mi abuelita y a mi mamá  
por todo su amor, apoyo y comprensión.*

*A mis hermanos por estar conmigo  
en los momentos buenos y malos.*

## **Agradecimientos**

Al Dr. César Flores Ortiz, por haber dirigido este trabajo, por su asesoría, apoyo, ideas y atención.

A DGAPA, con el proyecto IN201405-2, por la beca otorgada para la realización de esta investigación.

A mis sinodales: Dr. Elías Piedra, Dr. Guillermo Ávila, M. en C. Antonia Trujillo por su revisión y sus comentarios, y de manera muy especial a Luis Barbo Hernández por su participación en la elaboración de esta tesis, por su asesoría, disposición y su paciencia.

A todos los profesores de los laboratorios de Fisiología Vegetal y Biogeoquímica de la UBIPRO: Josefina Vázquez, Rafael Quintanar, Martha Urzúa y Margarita Moreno.

A mis amigas: Lola, Luisa, Mariana y Mary (en orden alfabético), porque a lo largo de la carrera compartimos muchos momentos inolvidables, por estar juntas en los momentos buenos y malos, por todo su apoyo, y principalmente por brindarme su amistad.

## Índice de contenido

	Resumen	iv
I.	Introducción	1
II.	Antecedentes	3
	Historia taxonómica	3
	Tribu Pachycereeae	3
	Género <i>Pachycereus</i>	4
	Características del género <i>Pachycereus</i>	9
	<i>Pachycereus fulviceps</i>	12
	<i>Pachycereus hollianus</i>	13
	Filogenia del género <i>Pachycereus</i>	15
	Evidencias morfológicas	15
	Evidencias moleculares	16
	Alcaloides en <i>Pachycereus</i>	18
III.	Justificación	21
IV.	Objetivos	22
	Material y Métodos	23
	Colecta del material biológico	23
V.	Extracción de los alcaloides	23
	Identificación de los alcaloides	24
	Métodos de análisis cladístico	25
	Resultados	26
	Contenido de alcaloides	26
	<i>Pachycereus fulviceps</i>	26
VI.	<i>Pachycereus hollianus</i>	33
	Alcaloides del género <i>Pachycereus</i>	37
	Análisis cladístico	39
	Discusión	50
VII.	Contenido de alcaloides	50
	Análisis Cladístico	52
VIII.	Conclusiones	57
IX.	Apéndice	59
X.	Referencias bibliográficas	60

## Índice de Cuadros y Figuras

Foto 1.	<i>Pachycereus fulviceps</i> en Texcala, Puebla.	12
Foto 2.	<i>Pachycereus hollianus</i> en Zapotitlán Salinas, Puebla.	14
Cuadro 1.	Clasificaciones genéricas de la tribu Pachycereae propuesta por diferentes autores.	6
Cuadro 2.	Clasificación de <i>Pachycereus</i> considerados por los principales autores que han realizado contribuciones importantes para el género.	8
Cuadro 3.	Especies reconocidas para el género <i>Pachycereus</i> .	9
Cuadro 4.	Distribución del género <i>Pachycereus</i> .	10
Cuadro 5.	Alcaloides presentes en <i>Pachycereus</i> y <i>Neobuxbaumia</i> .	38
Cuadro 6.	Estados de caracteres de alcaloides presentes en <i>Pachycereus</i> y <i>Neobuxbaumia</i> .	43
Figura 1.	Estructuras de los alcaloides presentes en <i>Pachycereus fulviceps</i> .	27
Figura 2.	Espectro de masas de 3,4-dimetoxi-fenetilamina.	28
Figura 3.	Patrón de fragmentación de 3,4-dimetoxi-fenetilamina.	28
Figura 4.	Espectro de masas de 2-hidroxi-3,4-dimetoxifenetilamina.	29
Figura 5.	Patrón de fragmentación de masas de 2-hidroxi-3,4-dimetoxifenetilamina.	30
Figura 6.	Espectro de masas de Gigantina.	31
Figura 7.	Patrón de fragmentación de masas de Gigantina.	31
Figura 8.	Espectro de masas de Tehuanina.	32
Figura 9.	Patrón de fragmentación de masas de Tehuanina.	32

Figura 10.	Estructuras de los alcaloides presentes en <i>Pachycereus hollianus</i> .	33
Figura 11.	Espectro de masas de Carnegina.	34
Figura 12.	Patrón de fragmentación de Carnegina.	35
Figura 13.	Espectro de masas de N-metilarizonina.	36
Figura 14.	Patrón de fragmentación de N-metilarizonina	36
Figura 15.	Relaciones biosintéticas de los alcaloides presentes en <i>Pachycereus</i> .	41
Figura 16.	Cladograma de los caracteres de alcaloides del género <i>Pachycereus</i> obtenido mediante el análisis de parsimonia	45
Figura 17.	Cladograma obtenido a partir de la prueba de confianza de bootstrap del género <i>Pachycereus</i>	46
Figura 18.	Cladograma de caracteres de alcaloides empleados en el estudio de Parsimonia del género <i>Pachycereus</i> y <i>Neobuxbaumia</i> .	48
Figura 19.	Cladograma obtenido a partir de la prueba de bootstrap de los géneros <i>Pachycereus</i> y <i>Neobuxbaumia</i> .	49

## Resumen

La tribu Pachycereae es de gran importancia en México debido a que se encuentra ampliamente distribuida en nuestro país, siendo el Valle de Tehuacan-Cuicatlán el centro de diversificación. Los géneros más representativos de la subtribu Pachycereinae son *Neobuxbaumia*, y *Pachycereus*, siendo este último taxonómicamente muy inestable, lo que ha llevado a la búsqueda de caracteres sinapomórficos que brinden una mejor delimitación. Un carácter importante dentro de estos géneros es el contenido de alcaloides. Por lo cual el objetivo de esta investigación fue realizar un análisis cualitativo del contenido de alcaloides en *Pachycereus hollianus* y *P. fulviceps*, y una búsqueda bibliográfica de el resto del género *Pachycereus*, posteriormente se hizo un análisis cladístico para determinar las relaciones filogenéticas entre los miembros de *Pachycereus* y *Neobuxbaumia*.

Las muestras fueron colectadas en la localidad de Texcala, para *P. fulviceps* y Zapotitlán Salinas, Puebla, para *P. hollianus*. La extracción de los alcaloides se realizó mediante separación ácido-básica y se analizó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, encontrándose en *P. fulviceps* 3,4-dimetoxifenetilamina, 2-hidroxi-3,4-dimetoxifenetilamina, tehuanina y gigantina; en *P. hollianus* se identificó carnegina y N-metilarizonina. Por otro lado, en la revisión bibliográfica se encontró reportada la presencia de alcaloides en 9 de las 13 especies de *Pachycereus*.

El estudio cladístico permitió establecer que el género *Pachycereus* es un grupo parafilético, ya que *P. marginatus* y *P. schottii* se mantienen en un clado separado del resto de las especies del género. Además *Neobuxbaumia mezcalaensis* se incluye en el grupo de *Pachycereus*, en donde *P. hollianus* mantiene una posición basal dentro del género y *P. fulviceps* permanece como *Pachycereus*.



## I. Introducción

La familia Cactaceae es endémica de América; su distribución natural abarca prácticamente todo el continente, con excepción de las regiones por encima de los 560° de latitud norte, desde zonas tropicales, selvas caducifolias, bosques templados, pero la mayoría de las especies (alrededor de 70%) se distribuyen en regiones áridas y semiáridas, constituyendo en varias zonas elementos dominantes de la vegetación (Bravo-Hollis, 1978).

Se calcula que la familia incluye alrededor de 122 géneros y 1600 especies aproximadamente (Nobel, 1988); México presenta alrededor de 52 géneros y 850 especies y es uno de los centros de diversificación de la familia, por lo que es considerado como el país con mayor variedad y riqueza de cactáceas a nivel mundial, contando con un alto grado de endemismo con aproximadamente 18 géneros (35%) y 715 especies (84%) (Bravo-Hollis, 1978).

Dentro de esta familia, existe una gran complejidad taxonómica, debido a la variedad que existe entre sus integrantes como resultado de diversos fenómenos biológicos como: la evolución convergente en caracteres vegetativos, la hibridación interespecífica e intergenérica, la poliploidía y los síndromes de polinización (Barthlott y Hunt, 1993; Cota, 1996; Flores, 2004).

Por lo anterior, resulta importante la realización de estudios que contribuyan al conocimiento de esta familia, para poder explicar los fenómenos anteriormente mencionados, establecer una clasificación taxonómica más concisa y determinar las relaciones existentes entre los grupos que conforman esta familia, así como sus asociaciones y/o interacciones con otros organismos. Para ello deben ser tomados en cuenta aspectos morfológicos,

moleculares y químicos. Este último aspecto, ha recibido mayor atención desde hace varios años debido a que la familia Cactaceae se caracteriza por tener niveles significativos de alcaloides, triterpenos y flavonoides, los cuales se identifican por tener alguna actividad terapéutica o como defensa contra depredadores (Flores, 2004).

En particular, la tribu Pachycereeae, una de las nueve tribus de la subfamilia Cactoideae, se ha caracterizado por tener cantidades considerables de estos compuestos, por lo que ha llamado la atención de muchos investigadores. Esta tribu incluye especies columnares, y la mayoría de éstas se localizan en México y el suroeste de Estados Unidos. La riqueza florística de esta tribu está principalmente representada por los géneros *Neobuxbaumia*, *Pachycereus* y *Stenocereus* (con 9, 7 y 23 especies respectivamente). A pesar de la falta de un soporte morfológico de la monofilia de Pachycereeae, todavía puede ser considerado un grupo modelo que puede ayudar a responder preguntas sobre sus relaciones filogenéticas con otros grupos (Dávila, *et al.* 2002).

## **II. Antecedentes**

### **Historia taxonómica**

#### **-Tribu Pachycereeae**

Franz Buxbaum (1958) fue el primero en proponer una hipótesis filogenética de la tribu Pachycereeae, incluyendo seis géneros. Tres años después (1961) modificó su propuesta reconociendo 13 géneros. Posteriormente siguió realizando estudios basados en caracteres morfológicos como la presencia de células pigmentadas en la epidermis del folículo, llamadas células perla y el contenido de triterpenos en el tallo. En 1975 reconoció cuatro subtribus: Myrtillocactinae, Pachycereinae, Stenocereinae y Pterocereinae (Gibson y Nobel, 1990).

Posteriormente Gibson y Horak (1978) hicieron una revisión del modelo propuesto por Buxbaum, realizando una lista de las especies que contienen células perla, triterpenos, alcaloides derivados de tetrahidroisoquinolinas y algunas características de las semillas; con base en esto, propusieron solo dos subtribus: Stenocereinae y Pachycereinae. En Stenocereinae se incluían aquellas especies con altos contenidos de triterpenos glicosídicos, células perla, cuerpos de sílice y semillas pequeñas y ásperas. Por otro lado, en la subtribu Pachycereinae se colocaron aquellas especies con alcaloides y con cristales de oxalato de calcio en la epidermis (Gibson y Nobel, 1990) (Cuadro 1). Con base a estos caracteres y de su segregación en los géneros de la tribu, Gibson y Horak plantearon una nueva hipótesis filogenética, la cual sugiere que la especiación de este grupo de cactáceas se ajusta a un modelo alopátrico, en donde las especies que se encuentran más hacia el norte del Desierto Sonorense son los grupos más derivados y probablemente los de origen más reciente (Gibson *et al.*, 1986).

Mas adelante se plantearon otras clasificaciones, una de ellas fue propuesta por la International Organization for the Study of Succulent Plants (IOS) en 1989, donde reconocen solo siete géneros para toda la tribu (Hunt y Taylor, 1990) y el de Barthlott y Hunt (1993), quienes reconocen diez géneros (Terrazas y Loza-Cornejo 2002) (Cuadro 1). Estas dos propuestas se derivan de la clasificación inicial de Britton y Rose (1919-23, en Flores 2004) y se basan en caracteres morfológicos de la flor y de la testa de las semillas, sin embargo, sus esquemas han sido discutidos por el hecho de que no aportan evidencias que sustenten su propuesta (Arias *et al.*, 2003).

### **-Género *Pachycereus***

En lo que respecta a *Pachycereus* Britton y Rose, tiene límites genéricos imprecisos, ya que las clasificaciones más recientes incluyen un número variable de especies, por lo que la monofilia del género ha sido cuestionada ya que no existen evidencias que lo sustenten, así como las relaciones con otros miembros de la tribu Pachycereeae.

La mayoría de las especies reconocidas actualmente en la clasificación de Barthlott y Hunt fueron colocadas inicialmente en el género *Cereus*, el cual incluía especies arborescentes, trepadoras y epífitas. Posteriormente, Berger (1905) hizo una revisión del género, proponiendo 18 divisiones subgenéricas, en la que aparecen nombres nuevos como *Lophocereus* y *Pachycereus* (con 3 y 5 especies respectivamente). Poco después, Britton y Rose (1919), basándose en la propuesta de Berger, dividieron el género *Cereus* para Norteamérica en 22 géneros, elevando a nivel de género varias divisiones subgenéricas, entre ellos

*Lophocereus* (3 spp.) y *Pachycereus* (10 spp.) éste último caracterizándose por la presencia de tallos gruesos, pubescencia apical pardusca y a menudo cerdas largas y doradas en el ápice y en el fruto. Asimismo, establecieron el género *Lemaireocereus* con 13 especies, el cual incluye a cactáceas columnares que presentan espinas agrupadas en el fruto, designando a *Cereus hollianus* la especie tipo de este género (Arias 2002; Gibson y Nobel 1990).

En 1938 Backeberg, propone el género *Anisocereus* para *Cereus lepidanthus*. Buxbahum (1961) lo coloca como sinónimo de *Escontria*, mientras que Barthlott y Hunt (1993) y Anderson (2001) lo consideran sinónimo de *Pachycereus*, y Health (1992) lo trata como una sección dentro de *Pachycereus* (Arias, 2002).

En el género *Lemaireocereus*, Backeberg (1938) propone el subgénero *Marginatocereus* para *Cereus marginatus*; y para 1942 lo eleva a género. Buxbahum (1961) lo incluye en la sinonimia de *Stenocereus*, pero Barthlott y Hunt (1993) con base en el estudio sistemático realizado por Gibson y Horak (1978) lo colocan en *Pachycereus*, manteniendo esta propuesta Heath (1992) y Anderson (2001).

Cuadro 1. Clasificaciones genéricas de la tribu Pachycereeae propuesta por diferentes autores. (Tomado de Terrazas y Loza-Cornejo 2002)

<b>Buxbaum 1958</b>	<b>Buxbaum 1961</b>	<b>Buxbaum 1975</b>	<b>Gibson y Horak 1978</b>	<b>IOS 1989</b>	<b>Barthlott y Hunt 1993</b>
<i>Carnegiea</i>	<b>Pterocereinae</b>	<b>Pterocereinae</b>	<b>Pachycereinae</b>	<i>Bergerocactus</i>	<i>Bergerocactus</i>
<i>Cephalocereus</i>	<i>Escontria</i>	<i>Escontria</i>	<i>Lophocereus</i>	<i>Pachycereus</i>	<i>Carnegiea</i>
<i>Lamaireocereus</i>	<i>Pterocereus</i>	<i>Pterocereus</i>	<i>Pachycereus</i>	<i>Carnegiea</i>	<i>Cephalocereus</i>
<i>Mitrocereus</i>	<b>Pachycereinae</b>	<b>Pachycereinae</b>	<i>Backebergia</i>	<i>Cephalocereus</i>	<i>Escontria</i>
<i>Neobuxbahumia</i>	<i>Heliobravoa</i>	<i>Heliobravoa</i>	<i>Cephalocereus</i>	<i>Stenocereus</i>	<i>Myrtillocactus</i>
<i>Pachycereus</i>	<i>Pachycereus</i>	<i>Pachycereus</i>	<i>Carnegiea</i>	<i>Rathbunia</i>	<i>Neobuxbaumia</i>
	<i>Pseudomitrocereus</i>	<i>Pseudomitrocereus</i>	<i>Mitrocereus</i>	<i>Myrtillocactus</i>	<i>Pachycereus</i>
	<b>Stenocereinae</b>	<b>Stenocereinae</b>	<i>Neobuxbaumia</i>		<i>Polaskia</i>
	<i>Carnegiea</i>	<i>Carnegiea</i>	<b>Stenocereinae</b>		<i>Rathbunia</i>
	<i>Lophocereus</i>	<i>Cephalocereus</i>	<i>Stenocereus</i>		<i>Stenocereus</i>
	<i>Stenocereus</i>	<i>Lophocereus</i>	<i>Myrtillocactus</i>		
	<b>Cephalocereinae</b>	<i>Machaerocereus</i>	<i>Polaskia</i>		
	<i>Cephalocereus</i>	<i>Mitrocereus</i>	<i>Escontria</i>		
	<i>Mitrocereus</i>	<i>Neobuxbaumia</i>	<i>Anisocereus</i>		
	<i>Neobuxbaumia</i>	<i>Rathbunia</i>	<i>Pterocereus</i>		
	<b>Myrtillocactinae</b>	<i>Stenocereus</i>	<i>Lamaireocereus</i>		
	<i>Myrtillocactus</i>	<b>Myrtillocactinae</b>			
	<i>Polaskia</i>	<i>Myrtillocactus</i>			
		<i>Polaskia</i>			

*Mitrocereus* fue propuesto como subgénero de *Cephalocereus* por Backeberg (1938), y en 1942 elevado a género. Buxbaum (1961), Bravo-Hollis (1978) y Gibson y Horak (1978) reconocen este género, al igual que *Backebergia* propuesto por Bravo-Hollis (1953) para *Cereus millitaris*, pero Barthlott y Hunt (1993), Heath (1992) y Anderson (2001) colocan a ambos géneros en la sinonimia de *Pachycereus* (Arias, 2002).

*Pterocereus* fue propuesto por MacDougall y Miranda (1954), y fue reconocido por Buxbaum (1961), Bravo-Hollis (1978) y Gibson y Horak (1978), pero Barthlott y Hunt (1993), Heath (1992) y Anderson (2001) lo colocan como sinónimo de *Pachycereus*.

*Pseudomitrocereus* fue propuesto por Bravo y Buxbaum (Buxbaum, 1961), para sustituir a *Mitrocereus*, pero fue determinado como sinónimo de *Pachycereus* por Barthlott y Hunt (1993) y Anderson (2001) (Arias, 2002).

Los cambios taxonómicos que han ocurrido dentro del género *Pachycereus* a través de los diferentes autores citados (Cuadro 2), reflejan la necesidad de realizar más estudios, utilizando diferentes tipos de caracteres que permitan establecer la posición taxonómica de las especies de *Pachycereus*.

Cuadro 2. Clasificación de *Pachycereus* considerados por los principales autores que han realizado contribuciones importantes para el género. (Tomado de Arias, 2002)

<b>Berger 1905</b>	<b>Britton y Rose 1909, 1920</b>	<b>Buxbaum 1961, 1963</b>	<b>Bravo-Hollis 1978</b>	<b>Gibson y Horak 1978</b>	<b>Barthlott y Hunt 1993</b>	<b>Healh 1992</b>	<b>Anderson 2001</b>
Género <i>Cereus</i>	Género <i>Pachycereus</i>	Género <i>Pachycereus</i>	Género <i>Pachycereus</i>	Género <i>Pachycereus</i>	Género <i>Pachycereus</i>	Género <i>Pachycereus</i>	Género <i>Pachycereus</i>
Subgéneros			Subgéneros	Sinónimos	Sinónimos	Secciones	Sinónimos
<i>Lohocereus</i> <i>Pachycereus</i>			<i>Lemaireocereus</i> <i>Pachycereus</i>	<i>Lemaireocereus</i> <i>Marginatocereus</i>	<i>Lemaireocereus</i> <i>Lophocereus</i> <i>Marginatocereus</i> <i>Mitrocereus</i> <i>Backebergia</i> <i>Anisocereus</i> <i>Pterocereus</i> <i>Pseudomitrocereus</i>	<i>Lemaireocereus</i> <i>Marshallocereus</i> <i>Pachycereus</i> <i>Backebergia</i> <i>Anisocereus</i>	<i>Lemaireocereus</i> <i>Lophocereus</i> <i>Marginatocereus</i> <i>Mitrocereus</i> <i>Backebergia</i> <i>Anisocereus</i> <i>Pterocereus</i> <i>Pseudomitrocereus</i>
5 spp.	10 spp.	6 spp.	4 spp	6spp.	12 spp.	13 spp.	12 spp.



## Características del género *Pachycereus*

*Pachycereus* (A. Berger) Britton & Rose es uno de los géneros con más cambios taxonómicos de la tribu Pachycereeae. Barthlott y Hunt (1993) reconocen 12 especies, sin embargo, Arias (2002) incluye a *P. tepamo* (Cuadro 3). El nombre deriva del término griego “pachys” que significa grueso, en alusión al gran espesor del tronco y de las ramas. Está distribuido en las regiones áridas y cálidas secas del noroeste (Cuadro 4), centro, occidente y sur de México, encontrándose la mayor riqueza de especies al sur del Eje Neovolcánico Transversal. Las especies de éste, generalmente son de hábito arborescente y son ampliamente ramificadas, variables en altura y algunas especies son de las más altas en Norteamérica (Backeberg, 1969; Bravo-Hollis, 1978; Britton y Rose, 1920, citados por Arias, 2002).

Cuadro 3. Especies reconocidas para el género *Pachycereus* por Barthlott y Hunt (1993), \* modificado por Arias, 2002.

---

*Pachycereus fulviceps* (F. A. C. Weber) D.R. Hunt

---

*Pachycereus gatessi* (M.E.Jones) D.R. Hunt

*Pachycereus gaumeri* Britton y Rose

*Pachycereus grandis* Rose

*Pachycereus hollianus* (F. A. C. Weber) Buxb.

*Pachycereus lepidanthus* (Eichlam) Britton y Rose

*Pachycereus marginatus* (DC.) Britton y Rose

*Pachycereus millitaris* (Audot) D. R. Hunt

*Pachycereus pecten-aboriginum* (Engelm.) D.R.Hunt

*Pachycereus pringlei* (S. Watson) Britton y Rose

*Pachycereus schottii* (Engelm.) D. R. Hunt

*Pachycereus tepamo* S. Gama y S. Arias\*

---

*Pachycereus weberi* (J. M. Coult.) Backeb.

---

Cuadro 4. Distribución del género *Pachycereus*.

<b>Especie</b>	<b>Distribución</b>
<i>P. fulviceps</i>	Suroeste de Tehuacán, Puebla y Oaxaca
<i>P. gatessi</i>	Costa del pacífico, principalmente Sonora y Baja California Sur.
<i>P. gaumeri</i>	Chiapas, Veracruz y Yucatán
<i>P. grandis</i>	Morelos, México y Puebla
<i>P. hollianus</i>	Zapotitlán Salinas, Puebla y Oaxaca
<i>P. lepidantus</i>	Guatemala
<i>P. marginatus</i>	Hidalgo, México, Guanajuato, Querétaro, Morelia, Michoacán, Puebla y Oaxaca.
<i>P. militaris</i>	Guerrero, Michoacán, Jalisco y Colima
<i>P. pecten-aboriginum</i>	Costa del Pacífico, desde Sonora y Baja California hasta el istmo de Tehuantepec, en Oaxaca.
<i>P. pringlei</i>	Baja California, Baja California Sur y Sonora
<i>P. schottii</i>	Cerca de la costa del Pacífico, desde el norte de Sinaloa hasta Sonora y en Baja California por el golfo de California, y Arizona, E. U.
<i>P. tepamo</i>	Michoacán y Guerrero
<i>P. weberi</i>	Puebla, Oaxaca, Guerrero y Morelos

Las plantas pertenecientes al género *Pachycereus* son generalmente gigantescas, con tronco bien definido, y se ramifican casi siempre en forma de candelabro. Las ramas presentan numerosas costillas que llevan aréolas a veces confluentes. Flores en las ramas viejas en aréolas apicales o terminales, muy grandes; con cámara nectaria considerablemente grande pero relativamente angosta. Fruto grande, cubierto con numerosas aréolas grandes y lanosas de las que salen numerosas espinas setosas, muy largas y rígidas; se abre abruptamente, de manera irregular, y pronto se seca, a veces es jugoso y

comestible. Semillas grandes, lisas, con brillo mate, en forma de casco; hilo basal amplio y poco hundido, circundado por el margen de la testa; embrión muy succulento, en forma de gancho, cotiledones grandes. Plántula con hipocótilo corto y hojas cotiledonares muy grandes, succulentas y triangulares (Bravo-Hollis, 1978). Además de la presencia de alcaloides derivados de tetrahidroisoquinolinas (Gibson y Nobel, 1990).

Sin embargo, uno o más de estos caracteres, se encuentran presentes también en otros géneros de Pachycereinae como *Carnegiea*, *Cephalocereus* y *Neobuxbaumia* (Anderson, 2001; Barthlott y Hunt, 1993; Bravo-Hollis, 1978) y algunas de las especies actualmente incluidas en *Pachycereus* no presentan uno o varios de estos caracteres (Arias, 2002).

Por lo que es importante continuar con el análisis de los caracteres de estas especies para encontrar más caracteres sinapomórficos que permitan establecer de manera más concisa la composición del género porque hasta la fecha no se han resuelto problemas relativos al número de especies que lo integran, de las relaciones filogenéticas con otros géneros de la subtribu Pachycereinae e investigaciones que documenten la variación intraespecífica.

Los trabajos hasta ahora realizados se basan principalmente en caracteres morfológicos como el hábito arborescente; la flor infundibuliforme con escamas, tricomas, cerdas o espinas; fruto seco cubierto por espinas y cerdas y las semillas grandes y negras. Y en menor cantidad se han realizado estudios a nivel molecular o químico, los cuales son de gran importancia para complementar las propuestas establecidas y poder confirmarlas o hacer las modificaciones pertinentes.

### **-*Pachycereus fulviceps***

Nombrada comúnmente como “órgano” (Foto 1). Es una planta columnar cuando es joven, después candelabroforme, gigantesca y ramosa, de 12 m de altura o más. Tronco bien definido como de 2 m de alto y 1m de diámetro. Presenta de 11 a 14 costillas gruesas. Espinas radiales de 8-12, dispuestas 1 arriba, otra abajo y 3 a cada lado de la aréola, de 1 cm de largo, delgadas, con la base bulbosa. Espinas centrales 3, 2 arriba cortas, como de 2 cm de largo, dirigidas hacia arriba y 1 en el centro de la aréola, de 6-7 cm de largo, tubulada, recta o algo curva, color moreno amarillento. Flores nocturnas en el ápice de los tallos emergen en medio de una masa lanosa, una en cada aréola, infundibuliformes, anchas de 6 a 7 cm de largo y 6 cm de ancho. Las semillas son pequeñas obovadas oblícuas, testa negra lisa, brillante, reticulada (Bravo-Hollis, 1978).



Foto 1. *Pachycereus fulviceps* en Texcala, Puebla.

Algunas personas utilizan la pulpa de los frutos como alimento de temporada, y se les nombra “huevos de león” (Reyes, *et al.* 2004).

Se distribuye en el Estado de Puebla; al suroeste de Tehuacán y en algunas localidades de Oaxaca (Bravo-Hollis, 1978).

### **-*Pachycereus hollianus***

Comúnmente es nombrado “baboso” o “acompes”. Es una planta arbustiva con tallos simples o poco ramificados que alcanzan 4-5 m de altura, delgados, de 12-14 espinas radiales de tamaño desigual, generalmente de 1-3.5 de diámetro y espinas centrales de 3-5, aplanadas, con base bulbosa, de 3 a 10 cm de longitud,. Las flores son producidas en el ápice del tallo, diurnas, anchamente tubular-campanuladas, de 7 a 10 cm de longitud y 3 a 3.5 cm de diámetro. Fruto ovoide, 6 a 8 cm de largo, al principio moreno verdoso, después moreno rojizo, con numerosas areolas provistas de espinas suaves y delgadas y de pelos cerdosos blancos. Semillas de 2 a 3 mm de largo, testa negra y brillante con puntuaciones pequeñas, hilo amplio. Florece en julio y agosto.



Foto 2. *Pachycereus hollianus* en Zapotitlán Salinas, Puebla.

Su distribución abarca el estado de Puebla; es abundante en Zapotitlán Salinas, cerca de Tehuacán. Es utilizada para formar setos vivos. El fruto es comestible, de sabor dulce (Bravo-Hollis, 1978).

## Filogenia del género *Pachycereus*

### - Evidencias morfológicas

Con respecto a la morfología de la semilla Barthlott y Hunt (2000) y Gibson *et al.* (1986) reportan para algunas especies de Pachycereeae uniformidad en la superficie de la testa y paredes periclinales planas con intersticios en sus vértices y que la mayoría de las semillas son negras y lustrosas (Terrazas y Loza-Cornejo, 2002).

Recientemente, Arias (2002) realizó un estudio utilizando 45 caracteres morfológicos de la flor, el fruto y la semilla, para posteriormente realizar un análisis cladístico, que dio como resultado la división de la subtribu Pachycereinae en tres clados. El primero se mantiene en la base de la subtribu y está comprendido por *Pachycereus gaumeri*, *P. hollianus* y *P. lepidanthus* y denominado grupo *Lemaireocereus*.

El segundo clado está integrado por diez especies de *Pachycereus*, en dos subgrupos. En uno se encuentran *P. grandis*, *P. pecten-aboriginum*, *P. pringlei*, *P. tepamo* y *P. weberi*, definiéndose como grupo monofilético. El otro subgrupo lo conforman *P. gatessi*, *P. schottii*, *P. marginatus* y *P. militaris*, llamado subgrupo *Lophocereus*.

El tercer clado lo forman *Stenocereus aragonii*, *S. eichlami*, *Pachycereus fulviceps*, *Cephalocereus columna-trajami*, *C. seniles* y las seis especies de *Neobuxbaumia* analizadas, llamado grupo *Cephalocereus*.

Con este análisis no se confirma la monofilia del grupo y Arias (2002) considera que el género *Pachycereus* debe estar constituido solo por cinco

especies: *Pachycereus grandis*, *P. pecten-aboriginum*, *P. pringlei*, *P. tepamo* y *P. weberi*.

Terrazas y Loza-Cornejo (2002) realizaron un análisis cladístico de la tribu Pachycereeae basado en caracteres anatómicos y morfológicos. En su estudio resaltan la carencia de evidencias que apoyen la permanencia de algunas especies en algún género determinado. Algunas de las especies que más se cuestionan son las pertenecientes al género *Pachycereus*, sobre todo en *Pachycereus fulviceps* que en el análisis resultó tener mayor relación con *Cephalocereus* y *Neobuxbaumia*. Además de que ciertos caracteres solo están presentes en algunas especies del género y en otros está ausente, por ejemplo las células del mucílago en la corteza.

#### **- Evidencias moleculares**

Desafortunadamente son pocos los estudios realizados a nivel molecular, pero realizados han servido en cierta medida para apoyar o modificar las propuestas sobre la composición del género *Pachycereus*.

Cota y Wallace (1997) realizaron un análisis de sitios de restricción en DNA de cloroplastos para *Ferocactus* y algunos miembros de la tribu Pachycereeae, y sugieren que *Pachycereus* es parafilético, porque *Pachycereus hollianus* se relaciona en mayor medida con *Neobuxbaumia*.

Terrazas y Loza-Cornejo (2002) encontraron que *P. fulviceps* está más relacionado con *Cephalocereus* y *Neobuxbaumia* que con otras especies de *Pachycereus*.



Nyffeler (2002) demostró que *Pachycereus* está más cercanamente relacionado con *Escontria* y *Echinocereus*, pero en este caso hace falta realizar un estudio más detallado para considerar esta propuesta, ya que el estudio se enfocó en relaciones a nivel de familia.

Arias *et al.* (2003) analizaron secuencias nucleótidas de dos regiones en el ADN de cloroplastos y ADN ribosomal nuclear, con la finalidad de estimar las relaciones filogenéticas entre las especies de *Pachycereus* y géneros de Pachycereinae. Este estudio demuestra que *Pachycereus* no es un género monofilético como lo considera Barthlott y Hunt (1993), Resaltan una división de tres subclados principales. El primer grupo es llamado Lemaireocereus y considerado monofilético, e incluye a *Pachycereus hollianus* y *P. lepidanthus*. El segundo grupo denominado Cephalocereus incluye a las especies de *Cephalocereus* y *Neobuxbaumia* en un clado monofilético y propone que ambos formen un solo género, además incorpora a *Pachycereus fulviceps* sugiriendo la restauración del género *Pseudomitrocereus* para esta especie. El último grupo es *Pachycereus*, e incluye a *Carnegiea*, *Stenocereus aragonii* y *S. eichlamii* y a las especies restantes de *Pachycereus*.

## **Alcaloides en *Pachycereus***

El estudio de los compuestos químicos presentes en la familia Cactaceae ha sido de gran interés en los últimos años, con la finalidad de describir sus características, estructura, propiedades, e incluso poder hacer inferencias de posibles relaciones filogenéticas entre los diversos géneros. Tal es el caso de los alcaloides, a los cuales se les atribuyen propiedades tóxicas o medicinales, ya que muchos de ellos han mostrado tener actividad fisiológica significativa en humanos y otros animales, especialmente en el sistema nervioso (Gibson y Nobel, 1990) de cuya presencia en varias especies de *Anhalonium* (actualmente *Ariocarpus*) informó por vez primera Lewin (1888) y de este trabajo siguieron muchos más, como los de Djerassi, Mc Laughlin, Kapadia, Arguell, entre otros (Bravo-Hollis, 1978).

La función de los alcaloides en las plantas no se conoce con certeza, pero se considera que pueden servir de protección contra depredadores e insectos, o simplemente como productos finales del metabolismo de las plantas (Bruhn, 1976)

Mata y McLaughlin (1982) han realizado una compilación de los alcaloides presentes en cactáceas, señalando que los alcaloides que se presentan con mayor frecuencia son aquellos derivados de la tirosina, los cuales tienen en común una hidroxilación en la posición C-4 del anillo aromático, aunque también se pueden presentar hidroxilaciones en las posiciones C-3 y C-5.

La mayor parte de los alcaloides de cactáceas actualmente conocidos pertenecen al grupo químico de las feniletilaminas o de las tetrahidroisoquinolinas (Bravo-Hollis, 1978). Este último grupo se encuentra presente en las cactáceas columnares de México, específicamente en las especies de la subtribu

Pachycereinae (Pachycereae), lo que permitió a Gibson y Horak (1978) desarrollar una hipótesis filogenética de esta subtribu y en sus investigaciones mostraron que no todos los integrantes de Pachycereinae contienen alcaloides, pero que están presentes en todas las especies de *Pachycereus*, *Lophocereus*, *Backebergia*, y en la especie *Neobuxbaumia mezcalensis*, lo cual indica que son géneros cercanamente relacionados (Gibson *et al.*, 1986).

La alta diversidad de tetrahydroisoquinolinas contrasta con su baja representación en otros géneros de Cactaceae (Gibson *et al.*, 1986). La mayoría de las tetrahydroisoquinolinas reportadas se han aislado del género *Lophophora*, sin embargo, en 1985, 26 compuestos habían sido identificados para algunas especies de la subtribu Pachycereae, de las cuales solo cuatro se encontraron en otras especies de cactáceas y algunos de ellos se muestran en la Figura 1 (Gibson y Nobel 1990).

Algunos de los alcaloides reportados para las especies de *Pachycereus* son carnegina para *P. pringlei* y *Pachycereus weberi* (Bracca y Kaufman, 2004).

Mata y McLaughlin (1980a) analizaron a *Pachycereus pringlei* y reportan la presencia de tehuana y heliamina, así como trazas de lemaireocereína y weberina (En Flores, 2004).

Para *Pachycereus weberi* ocho tetrahydroisoquinolinas han sido cristalizadas e identificadas por Mata y McLaughlin (1980b), estableciéndolas como nortehuana, lemaireocereína, weberidina, weberina, heliamina, *N*-metilheliamina u oximetilcoripalina, tehuana y pelotina, además de un glucósido de fenol lemairina, el cual es responsable de la coloración oscura que adquiere el

tejido después de un daño. Éstos mismos alcaloides se han reportado para otras especies como *P. grandis* y *P. marginatus*.

En *Pachycereus fulviceps*, Flores (2004) reporta la presencia de heliamina, mientras que en *P. hollianus* identificaron la presencia de los alcaloides 3,4-dimetoxi fenetilamina, weberina, pelotina y carnegina.

Como se observa, la información sobre el contenido de alcaloides en las diversas especies de cactáceas es todavía insuficiente. Para ello se requieren hacer estudios en suficiente número de especies, variedades y formas para que puedan ser correlacionados con estudios filogenéticos y morfológicos que ayuden a esclarecer la complicada taxonomía de las cactáceas, sobre todo de la tribu Pachycereeae, y en particular *Pachycreus*, por ser un género con constantes modificaciones en sus especies.

### III. Justificación

Debido a las constantes modificaciones taxonómicas dentro de la tribu Pachycereae, es necesaria la realización de estudios más detallados sobre aspectos morfológicos, moleculares y químicos, que permitan delimitar con precisión los grupos pertenecientes a esta tribu. Uno de los géneros más inconstantes es *Pachycereus*, el cual ha tenido diversas modificaciones desde que fue propuesto, debido a que las especies que lo conforman comparten uno o más caracteres con otros géneros. Un claro ejemplo son *Pachycereus fulviceps* y *P. hollianus*, para los cuales su permanencia dentro del género ha sido cuestionada constantemente. Por lo que la realización de un análisis cladístico basado en el contenido de alcaloides puede contribuir de manera considerable en el establecimiento adecuado de las especies que conforman al género *Pachycereus*.

#### IV. Objetivos

General:

Determinar los alcaloides presentes en dos especies de cactáceas columnares, *Pachycereus fulviceps* y *P. hollianus* (Pachycereeae) y realizar un análisis cladístico basado en el contenido de alcaloides del género *Pachycereus*.

Particulares:

- Describir la composición y estructura de los alcaloides presentes en *Pachycereus fulviceps* y *P. hollianus* y sus implicaciones quimiotaconómicas.
- Realizar un análisis cladístico basado en el contenido de alcaloides de *Pachycereus fulviceps* y *P. hollianus* y de las especies restantes del género, así como del género *Neobuxbaumia*, a través de una revisión bibliográfica y determinar sus relaciones filogenéticas.
- Contribuir en la taxonomía del género *Pachycereus*, en particular de las especies *Pachycereus fulviceps* y *P. hollianus*.

## **V. Material y Métodos**

### **Colecta del material biológico**

Para la caracterización de los alcaloides se colectaron muestras de aproximadamente 5 kg de peso fresco de tallos tomados a partir del ápice, durante el mes de abril del 2006. *P. fulviceps* fue colectado en la localidad de Texcala y *P. hollianus* en Zapotitlán Salinas, en el estado de Puebla.

### **Extracción de los alcaloides**

La extracción se realizó con 1 Kg. de material fresco, el cual fue macerado con 1.33 L de metanol y dejado en reposo durante 3 días protegido de la luz. Después, el extracto metanólico fue filtrado y llevado al rotavapor a una temperatura de 60° C. Se siguió la técnica de separación ácido-básica, en donde el residuo fue acidificado con HCl 0.1N y se realizaron tres extracciones con cloroformo (CHCl<sub>3</sub>) en proporción 1:1, después la fase acuosa se alcalinizó con NaHCO<sub>3</sub> 0.2N y se realizaron tres extracciones con CHCl<sub>3</sub> siguiendo la proporción anterior. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, fue evaporada a sequedad a 50° C y resuspendida en 5 ml de CHCl<sub>3</sub>.

Para comprobar la presencia de alcaloides, se tomaron 100 µL del extracto y se evaporó el cloroformo; posteriormente se le adicionó 1 ml de HCl 0.1N y se analizó cualitativamente mediante la reacción de Dragendorff (Raffauf, 1996).

## Identificación de los alcaloides

Para la identificación química de los alcaloides se utilizó 1µL de cada uno de los extractos y se analizaron mediante un cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas (CG-EM) (marca AGILENT, Modelo 5973 Network) con las siguientes condiciones:

### -Cromatógrafo de gases

Temperatura del inyector: 200° C

Temperatura inicial del horno: 70° C (por 2 min)

Rampa de calentamiento: 8° C/min. hasta alcanzar 270° C

Velocidad del gas acarreador: 35 cm/min

Columna: DB-1

Modo de inyección: Splitless (cerrado 0 min, abierto 0.01min)

### -Espectrómetro de masas

Temperatura de línea de transferencia: 280° C

Temperatura de la fuente de ionización: 180° C

Corriente: 70 eV

Rango de masas: 50-400 m/z

A partir de los espectros de masas obtenidos se determinó cualitativamente el tipo de alcaloide (tetrahidroisoquinolina o β-fenetilamina) y se realizó la propuesta de fragmentación para cada uno de ellos.



### **Métodos de análisis cladístico**

En el análisis cladístico, los alcaloides fueron considerados como caracteres y fueron codificados en una matriz de acuerdo a su posición dentro de la ruta de biosíntesis de los alcaloides (ver sección de Análisis cladístico). Posteriormente la matriz se analizó utilizando el algoritmo de parsimonia mediante el programa WINCLADA 1.00.08 (Nixon, 2002) y NONA Versión 2 (Goloboff, 1999). Se realizó una búsqueda heurística 500 réplicas. El cladograma seleccionado fue optimizado para caracteres sin ambigüedades y adicionalmente se llevó a cabo la prueba de confianza de bootstrap, seleccionando los cladogramas de consenso estricto.

## **VI. Resultados**

### **Contenido de Alcaloides**

En los extractos de *P. hollianus* y *P. fulviceps*, obtenidos mediante la separación ácido-básica, se comprobó la presencia de alcaloides a través de la reacción de Dragendorff, manifestándose la precipitación característica.

Posteriormente las muestras fueron analizadas mediante CG-EM, identificándose derivados de tetrahidroisoquinolinas y  $\beta$ -fenetilaminas para ambas especies; a través del análisis de los espectros obtenidos, se realizó la propuesta del patrón de fragmentación para cada alcaloide.

#### ***-Pachycereus fulviceps***

Bibliográficamente se ha reportado únicamente la presencia de Heliamina (Flores, 2004). Sin embargo, en este trabajo se encontraron 6 alcaloides diferentes, de los cuales solo 4 fueron identificados; dos pertenecientes al grupo de las  $\beta$ -fenetilaminas: 3,4-dimetoxifenetilamina y 2-hidroxi-3,4-dimetoxifenetilamina, y dos del grupo de las tetrahidroisoquinolinas: gigantina y tehuanaína (Figura 1); su identificación se logró a través del análisis de los espectros de masas.

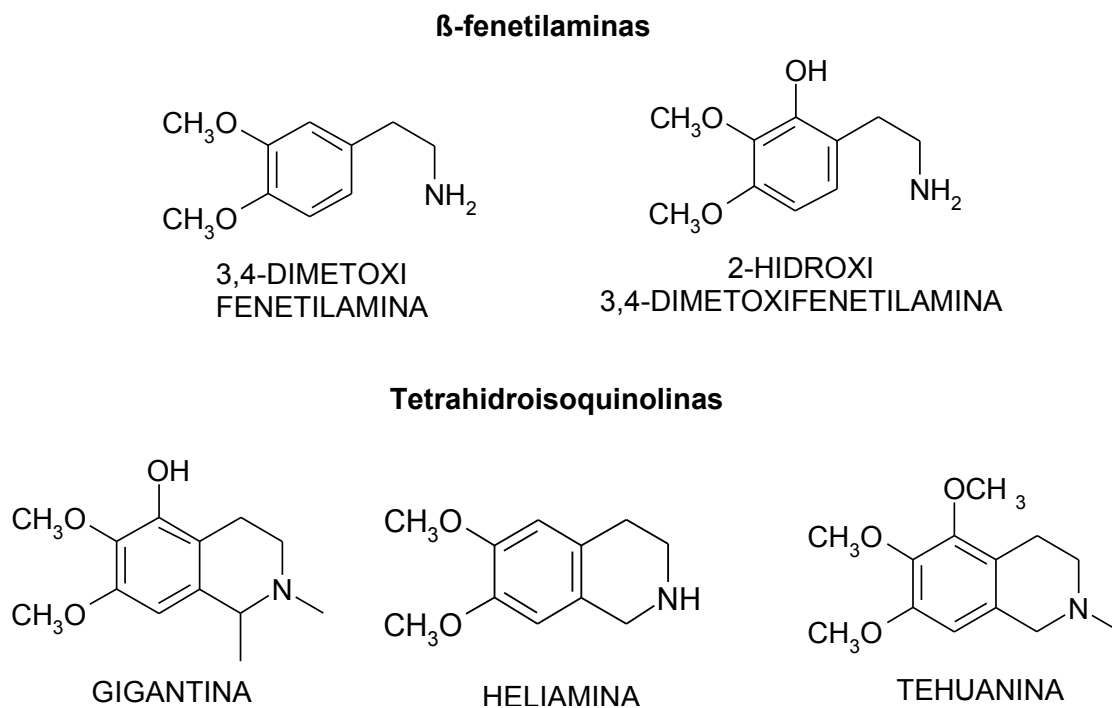


Fig. 1. Estructuras de los alcaloides presentes en *Pachycereus fulviceps*.

En las Figuras 2 y 3 se presenta el espectro de masas y el patrón de fragmentación propuesto para el alcaloide 3,4-dimetoxi-fenetilamina respectivamente. En el patrón de fragmentación, el ión molecular es  $m/z$  181, correspondiente a la fórmula  $C_{10}H_{15}NO_2$ , en el cual ocurre un arreglo de McLafferty, con la transposición de un hidrógeno de la amina hacia el anillo aromático y la pérdida del fragmento  $m/z$  29, dando origen a  $m/z$  152, y posteriormente, la pérdida de un hidrógeno para formar al pico base  $m/z$  151, o bien, perder el metilo metoxílico ( $m/z$  137). Una ruta alterna se presenta con la pérdida de un metoxilo y su carbono base ( $m/z$  139) a partir del ión molecular, seguido de la eliminación de metilamina, dando origen al ion  $m/z$  108.

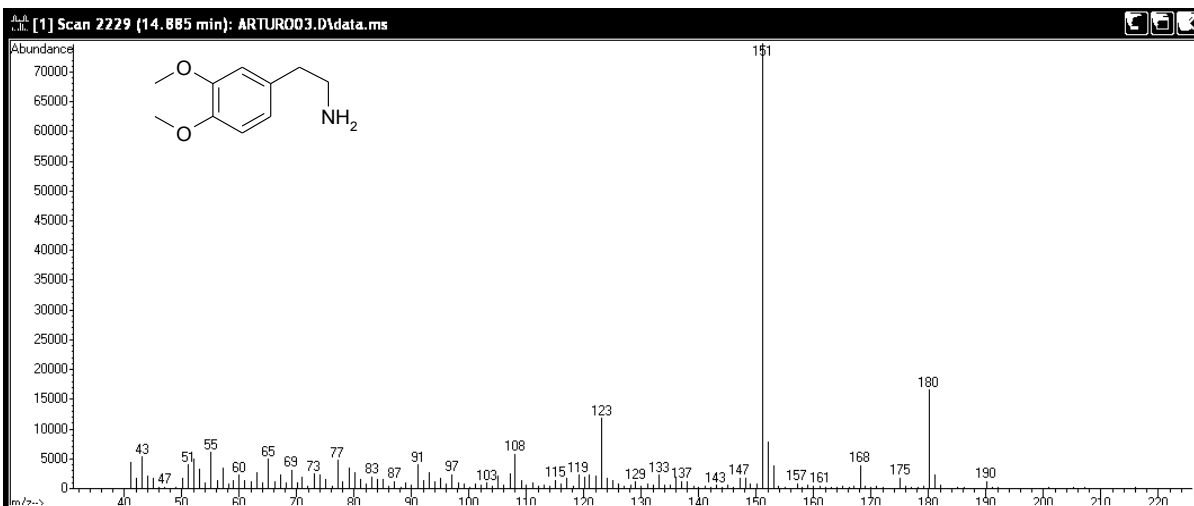


Fig. 2. Espectro de masas de 3,4-dimetoxi-fenetilamina

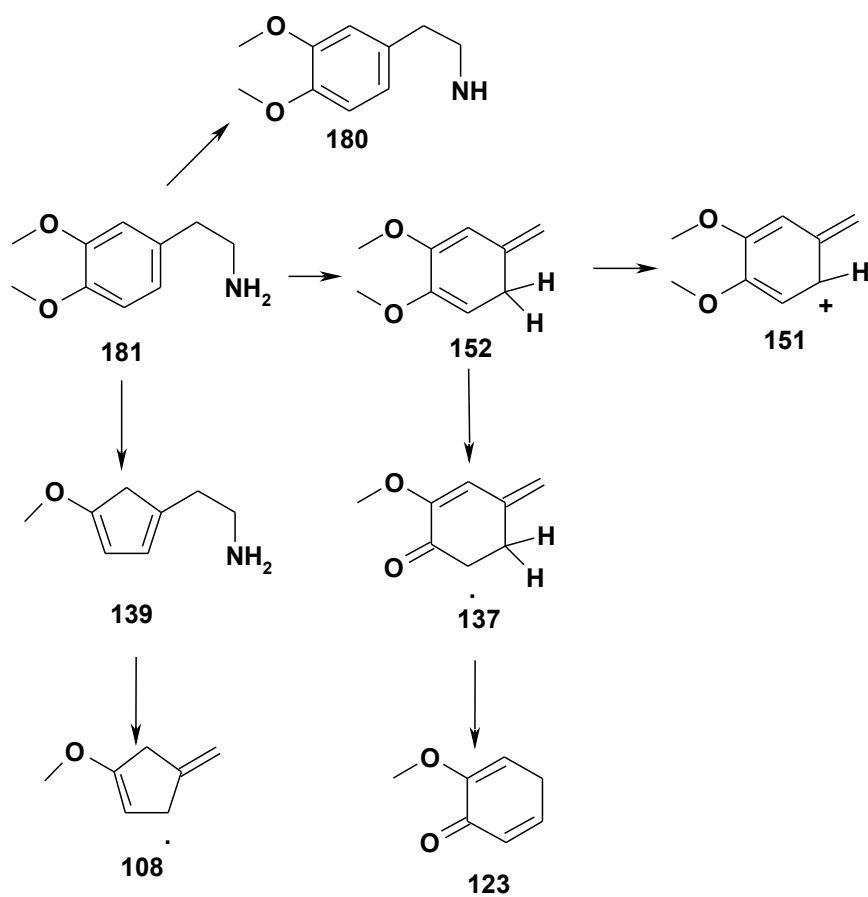


Fig. 3. Patrón de fragmentación de 3,4-dimetoxi-fenetilamina

Con respecto al alcaloide 2-hidroxi-3,4-dimetoxi-fenetilamina, en la Figura 4 se observa el espectro de masas y en la Figura 5 se presenta el patrón de fragmentación, en donde el ión molecular  $m/z$  197, corresponde a la fórmula  $C_{10}H_{15}NO_3$ . Para la fragmentación se propone la pérdida del alcohol formando el ión  $m/z$  180, y posteriormente la pérdida de un metoxilo ( $m/z$  163), o bien el rompimiento del metoxilo en la posición C-5 junto con su carbono base para producir el pico  $m/z$  137, el cual es el pico base y posteriormente pierde metil amina para producir el pico  $m/z$  107.

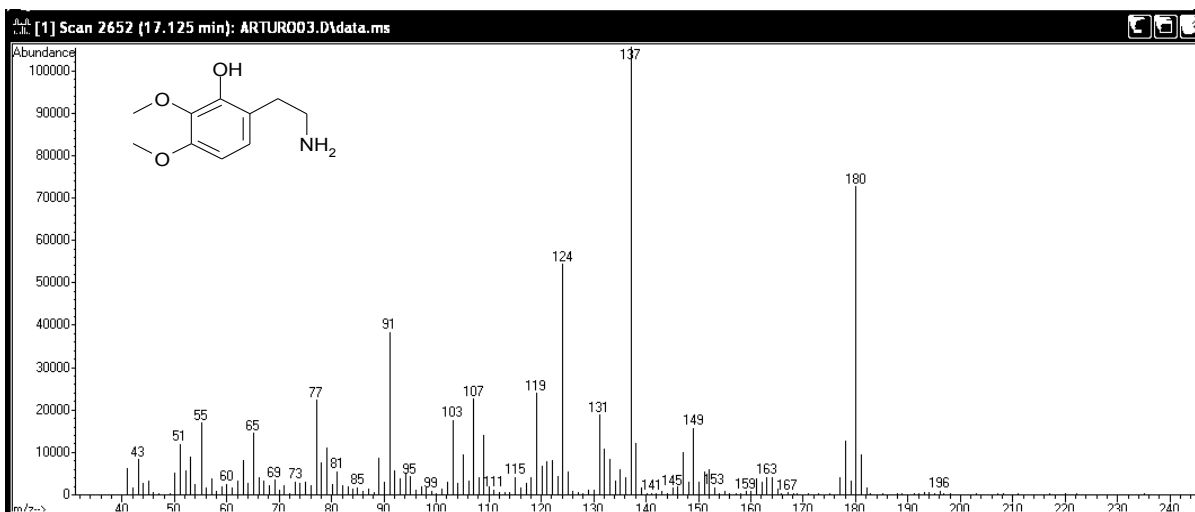


Fig. 4. Espectro de masas de 2-hidroxi-3,4-dimetoxifenetilamina

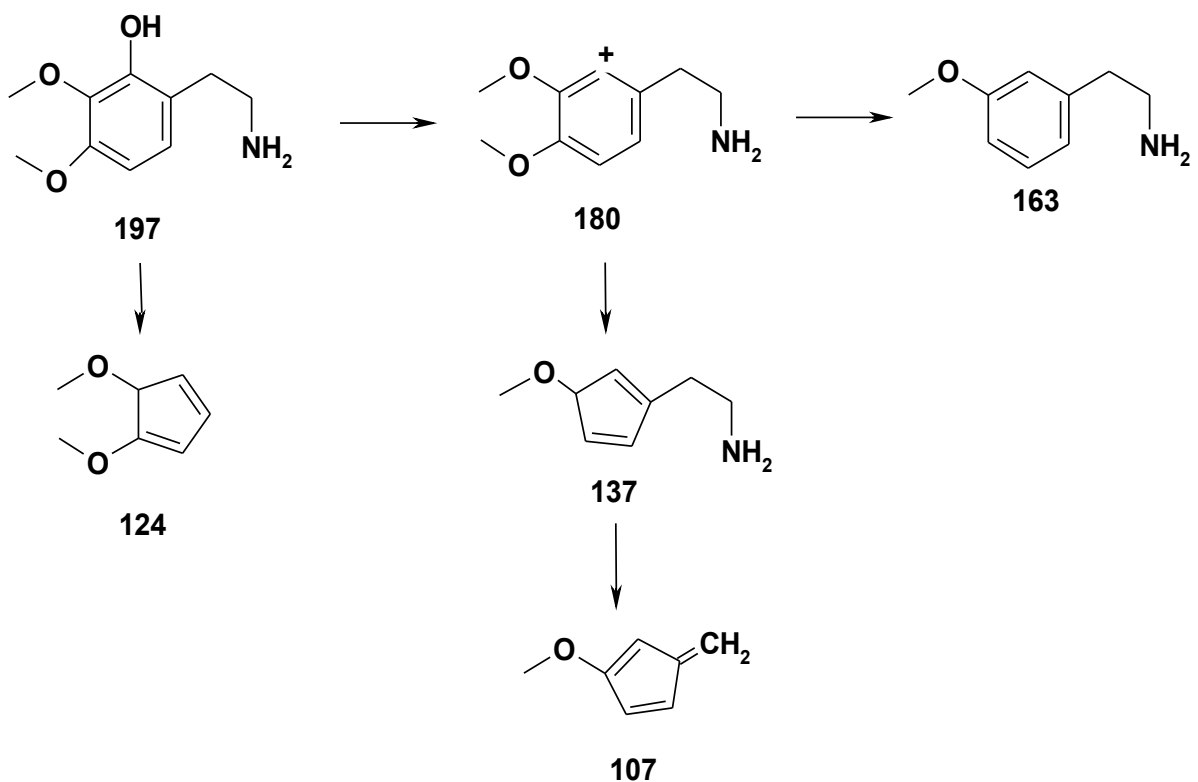


Fig. 5. Patrón de fragmentación de masas de 2-hidroxi-3,4-dimetoxifenetilamina

En el espectro de masas de gigantina (Figura 6) y el patrón de fragmentación propuesto (Figura 7), el ión molecular corresponde a  $m/z$  237. Durante la fragmentación ocurre la pérdida del N-metilo, posteriormente pueden ocurrir dos posibles fragmentaciones: 1) la pérdida de un hidrógeno ( $m/z$  221) y posteriormente, de un metoxilo y su carbono base, originándose el ión  $m/z$  164, correspondiente al pico base, el cual finalmente pierde OH ( $m/z$  147); y 2) la eliminación del metilo para generar el ión  $m/z$  207, y después la pérdida de OH con su carbono base ( $m/z$  178).

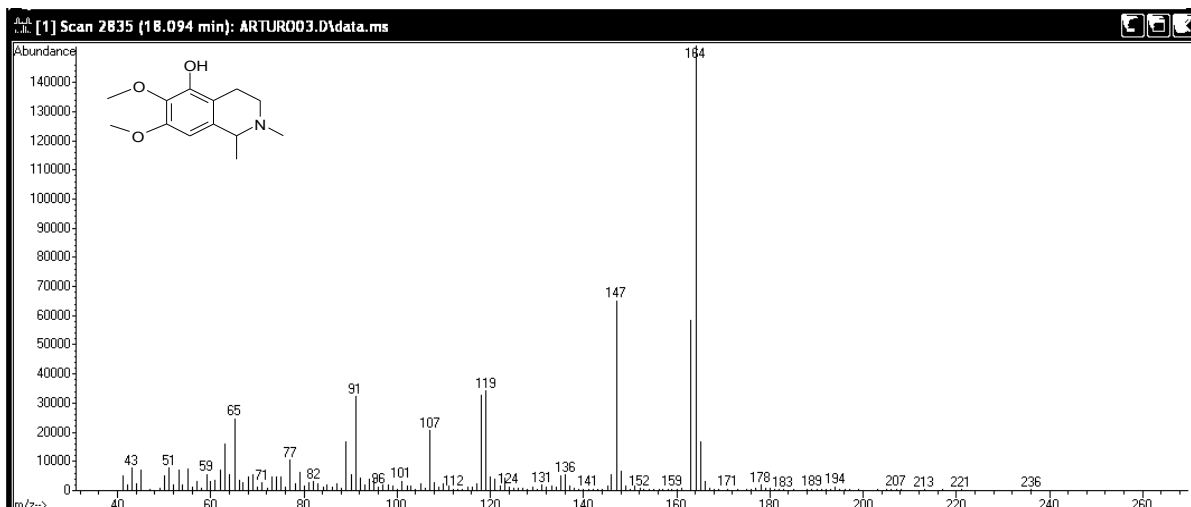


Fig. 6. Espectro de masas de Gigantina

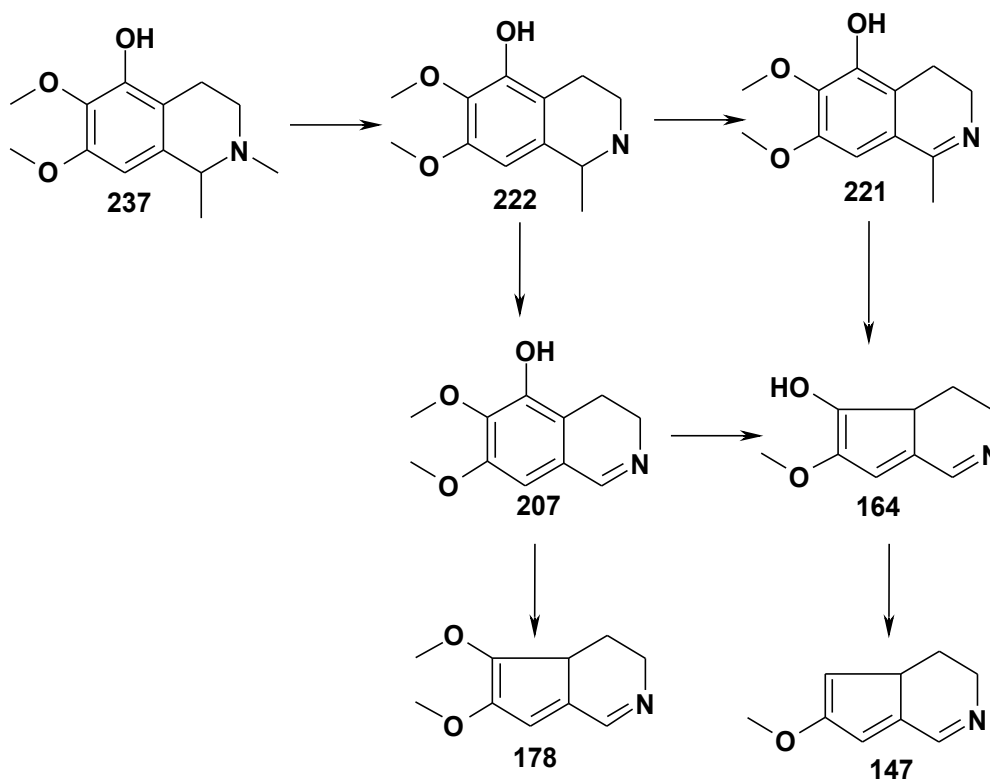


Fig. 7. Patrón de fragmentación de masas de Gigantina

Las Figuras 8 y 9 representan el espectro de masas y el patrón de fragmentación de Tehuanina, en donde el ión molecular corresponde a m/z 237, en el cual ocurre la eliminación del N-metilo generando el ión m/z 222 y

posteriormente, la pérdida de un metoxilo. Por otra parte se puede presentar la pérdida de dos metilos y la estabilización de los electrones por resonancia para producir el ion  $m/z$  207, seguido de la pérdida de monóxido de carbono, formando el ión  $m/z$  179 y posteriormente la eliminación de metilo para dar origen a los iones  $m/z$  164 y 151.

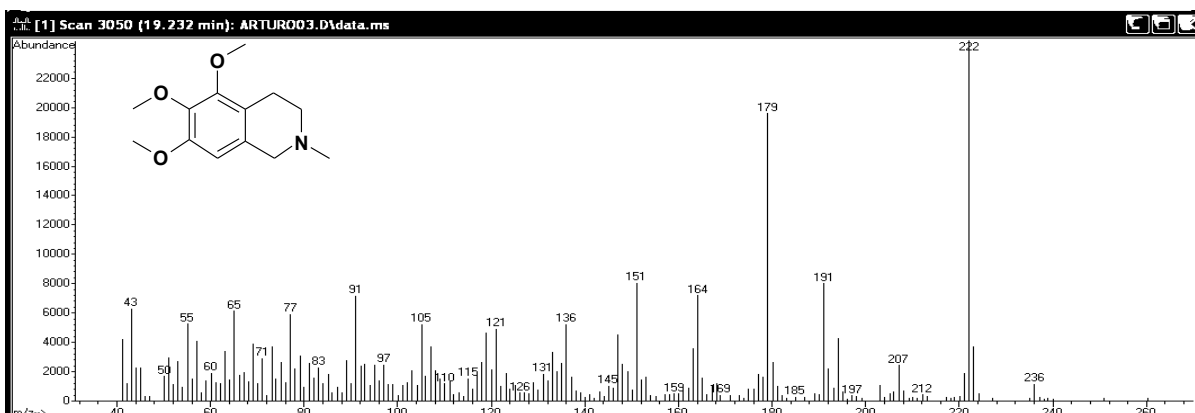


Fig. 8. Espectro de masas de Tehuanina

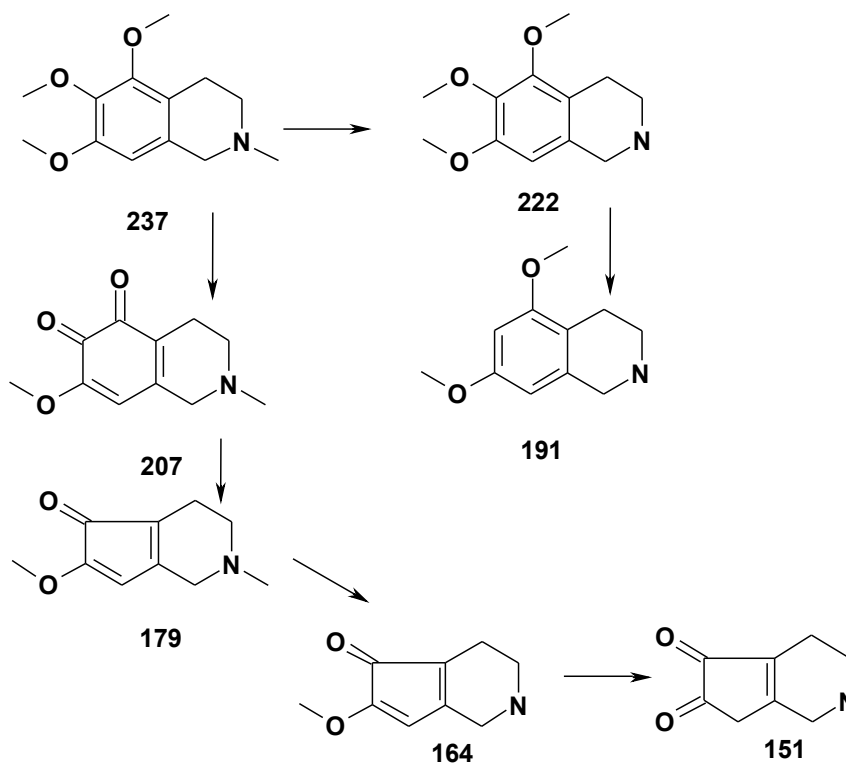


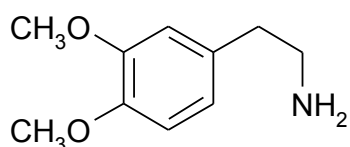
Fig. 9. Patrón de fragmentación de masas de Tehuanina



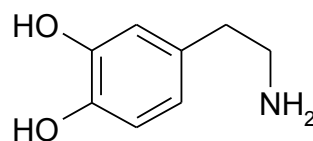
### ***-Pachycereus hollianus***

Para esta especie se encontraron cuatro alcaloides, dos de ellos fueron identificados como tetrahidroisoquinolinas: Carnegina y N-metilarizonina, mientras que para los otros dos no fue posible su identificación. Por otra parte, se ha reportado la presencia de otros alcaloides como 3,4-dimetoxi-fenetilamina, salsolidina, pellotina y dopamina (Flores, 2004), sus estructuras se presentan en la Figura 10.

#### **$\beta$ -fenetilaminas**

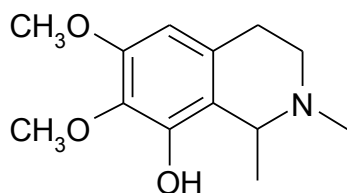


3,4-DIMETOXI-FENETILAMINA

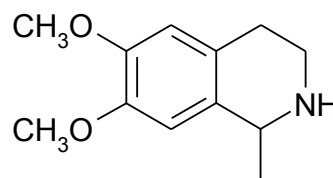


DOPAMINA

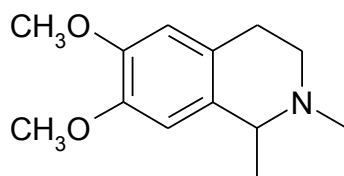
#### **Tetrahydroisoquinolinas**



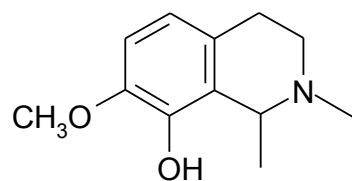
PELLOTINA



SALSOLIDINA



CARNEGINA



N-METILARIZONINA

Fig. 10. Estructuras de los alcaloides presentes en *Pachycereus hollianus*.

En la Figura 11 se presenta el espectro de masas de carnegina, en tanto que en la Figura 12 se presenta el patrón de fragmentación. Este alcaloide presenta una masa de  $M^+$  221 y una fórmula molecular  $C_{13}H_{19}NO_2$ . Su fragmentación puede estar dada por dos rutas: 1) ocurre la pérdida del metilo metoxílico ( $m/z$  206) y posteriormente una reacción de retro Diels Alder producen el ion  $m/z$  178, y 2) la eliminación del N-metilo, dando el ión  $m/z$  206, y posteriormente la pérdida de un hidrógeno y del metilo en la posición C1 ( $m/z$  190), y dos fragmentaciones siguientes: la pérdida de etilamina y un metilo originando los iones  $m/z$  164 y 149, siendo éste último el pico base.

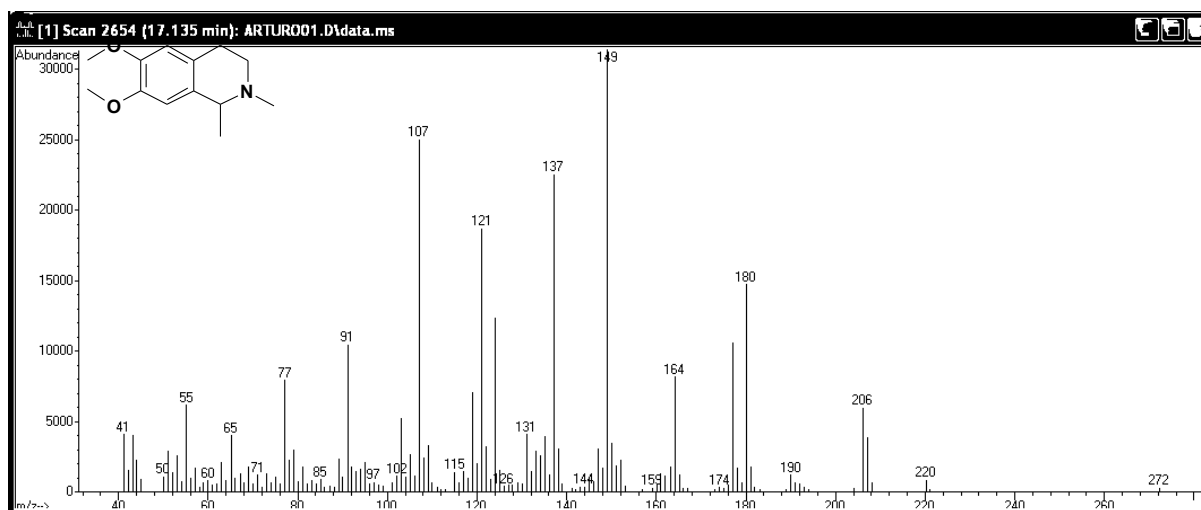


Fig. 11. Espectro de masas de Carnegina

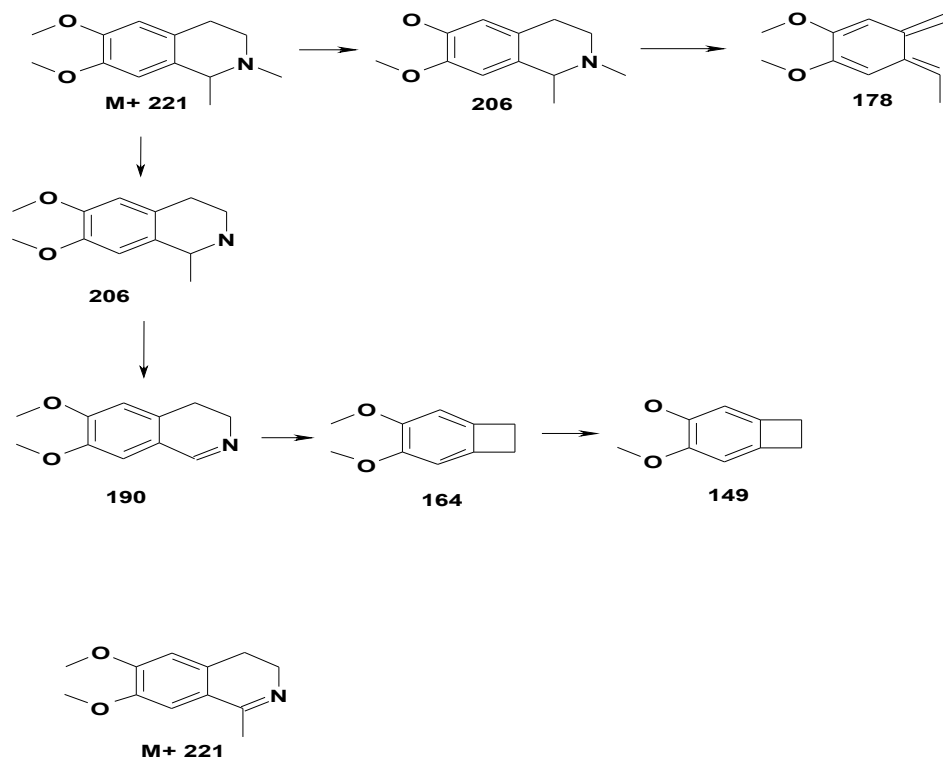


Fig. 12. Patrón de fragmentación de Carnegina

En tanto para el alcaloide N-metilarizonina, presentado en las Figuras 13 y 14, presenta una masa de  $M+ 207$ , correspondiente a la fórmula molecular  $C_{12}H_{17}NO_2$ ; el pico base pertenece al ión  $m/z 189$ , el cual es originado a través de la deshidratación del ión molecular, después puede ocurrir la pérdida del metilo metoxílico ( $m/z 174$ ), o bien, de la etilamina ( $m/z 146$ ).

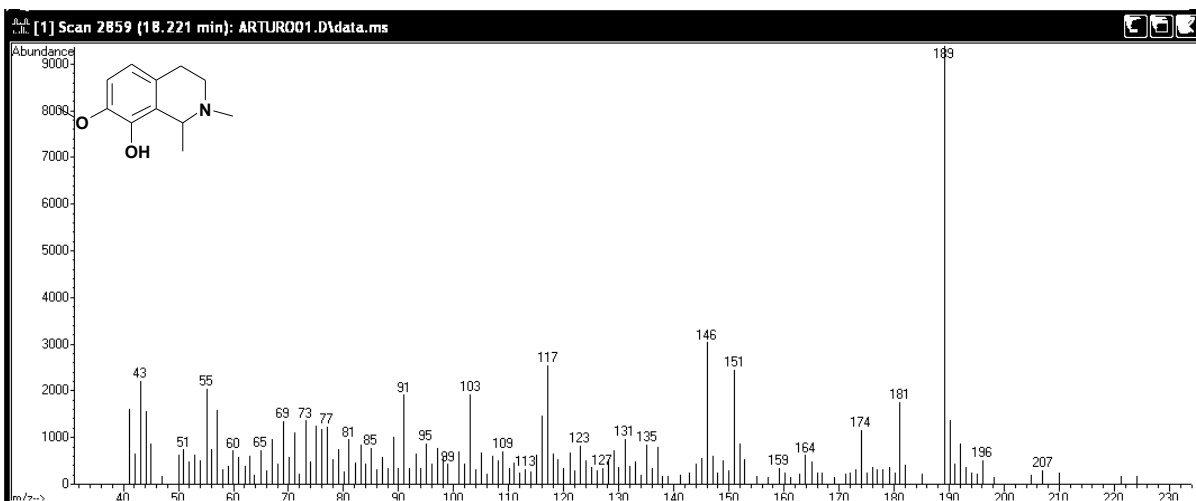


Fig. 13. Espectro de masas de N-metilarizonina

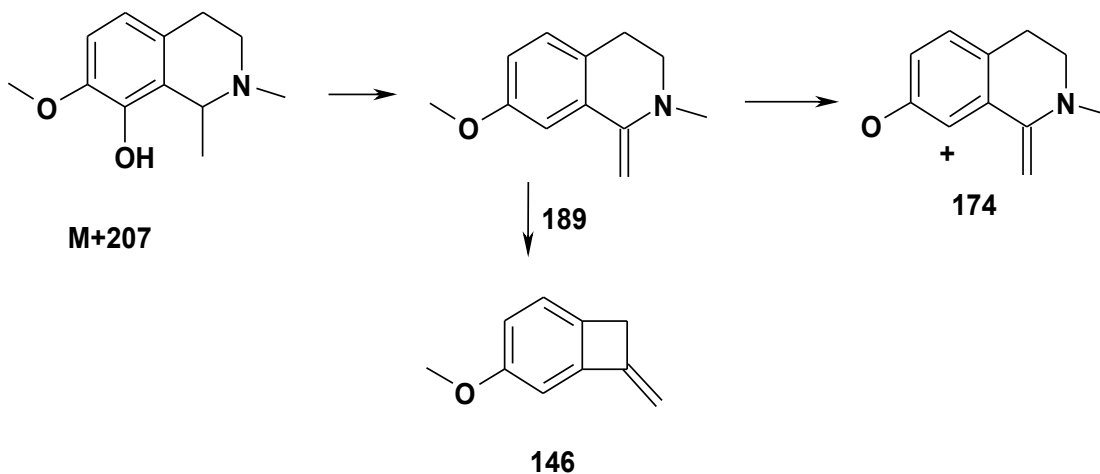


Fig. 14. Patrón de fragmentación de N-metilarizonina

Cabe mencionar que la determinación de los alcaloides mencionados anteriormente, fueron confirmados a través de la comparación de espectros ya establecidos, que han sido obtenidos por Flores (2004) y otros trabajos realizados en el laboratorio de Biogeoquímica, UBIPRO, FES Iztacala.

## **Alcaloides del género *Pachycereus***

De acuerdo a la revisión bibliográfica y a los resultados obtenidos en esta investigación, se ha reportado el contenido de alcaloides en 9 de las 13 especies consideradas para género *Pachycereus* (Ver cuadro 5).

Las especies que hasta el momento no presentan ningún reporte son *P. gatessi*, *P. grandis*, *P. lepidantus* y *P. tepamo*, lo cual no significa que se descarte la presencia de éstos.

Como puede observarse en el cuadro 5, uno de los alcaloides que se presenta con mayor frecuencia es Heliamina, encontrándose en *P. fulviceps*, *P. militaris*, *P. pecten-aboriginum*, *P. pringlei* y *P. weberi*; seguido por Salsolidina, presente en *P. hollianus*, *P. pecten-aboriginum* y *P. weberi*; Tehuanina (en *P. fulviceps*, *P. pringlei* y *P. weberi*) y 3,4-dimetoxi-fenetilamina (*P. fulviceps*, *P. hollianus* y *P. militaris*). El resto de los alcaloides se presentan con menor frecuencia, pero su presencia o ausencia será discutida más adelante.

Cuadro 5. Alcaloides presentes en *Pachycereus* y *Neobuxbaumia*.

Especie	Alcaloides
<i>Pachycereus fulviceps</i>	Heliamina <sup>1</sup> 3,4-dimetoxi-fenetilamina 2-hidroxi-3,4-dimetoxifenetilamina Gigantina Tehuanina
<i>Pachycereus gatessi</i>	No reportado
<i>Pachycereus gaumeri</i>	Deglucopterocereina N-oxido <sup>2</sup>
<i>Pachycereus grandis</i>	No reportado
<i>Pachycereus hollianus</i>	3,4-dimetoxi-fenetilamina <sup>1</sup> Salsolidina <sup>1</sup> Pelotina <sup>1</sup> Carnegina N-metilizarionina
<i>Pachycereus lepidantus</i>	No reportado
<i>Pachycereus marginatus</i>	Pilocereina <sup>3</sup> Piloceredina <sup>3</sup> Lophocerina <sup>3</sup>
<i>Pachycereus militaris</i>	3, 4-dimetoxifenetilamina <sup>1</sup> Heliamina <sup>1</sup> Dehidroheliamina <sup>1</sup>
<i>Pachycereus pecten-aboriginum</i>	3-hidroxi-4-metoxifenetilamina <sup>4</sup> Heliamina <sup>1</sup> Tiramina <sup>1</sup> Salsolidina <sup>1</sup> Arizonina <sup>1</sup>
<i>Pachycereus pringlei</i>	Tehuanina <sup>2</sup> Heliamina <sup>4</sup> Lamairocereina <sup>4</sup> Weberina <sup>4</sup>
<i>Pachycereus schottii</i>	Pilocereina <sup>3</sup> Piloceredina <sup>3</sup> Lophocerina <sup>3</sup>
<i>Pachycereus tepamo</i>	No reportado
<i>Pachycereus weberi</i>	Anhalonidina <sup>5</sup> Heliamina <sup>5</sup> Lemairocerina <sup>5</sup> N-metilheliamina <sup>5</sup> Nor-tehuanina <sup>5</sup> Pelotina <sup>5</sup> Salsolidina <sup>5</sup> Tehuanina <sup>5</sup> Weberidina <sup>5</sup> Weberina <sup>5</sup>

Cuadro 5. Continuación.

ESPECIE	ALCALOIDES
<i>Neobuxbaumia macrocephala</i>	Anhalidina <sup>1</sup> Carnegina <sup>1</sup> Salsolidina <sup>1</sup>
<i>Neobuxbaumia mezcalaensis</i>	Heliamina <sup>1</sup>
<i>Neobuxbaumia multiareolata</i>	Anhalidina <sup>1</sup> Carnegina <sup>1</sup> Salsolidina <sup>1</sup>
<i>Neobuxbaumia scoparia</i>	Anhalidina <sup>1</sup> Carnegina <sup>1</sup> Salsolidina <sup>1</sup>
<i>Neobuxbaumia tetetzo</i>	Anhalidina <sup>1</sup> Carnegina <sup>1</sup> Salsolidina <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Flores, 2004. <sup>2</sup> Pummangura, et al. 1982. <sup>3</sup> Gibson y Horak, 1978. <sup>4</sup> Batis, 2002. <sup>5</sup> Mata, 1982.

### Análisis cladístico

Para este análisis solo se consideraron las especies que contienen alcaloides (excepto *P. gaumeri*) y que son presentadas en el Cuadro 5, las especies que no presentan ningún reporte fueron excluidas.

De acuerdo a la información de este cuadro, se prosiguió a la codificación de éstos, siguiendo la teoría de que la evolución del carácter es la ruta biosintética, en la cual las enzimas que catalizan la última etapa de la ruta, necesariamente evolucionan a partir de las enzimas que llevan a cabo las transformaciones previas (Barkman, 2001); por lo que los pasos novedosos sólo evolucionan integrados en el contexto de una ruta metabólica existente (Flores, 2004).

Para ello se utilizó la ruta de relaciones biosintéticas de los alcaloides elaborada por Flores (2004), con algunas modificaciones para anexar a los alcaloides 2-hidroxi-3,4-dimetoxi-fenetilamina, N-metilarizonina, lofocereina y

pilocereina (Figura 15); en la cual el precursor inicial en la síntesis de tetrahidroisoquinolinas es la tirosina y posteriormente ocurren una serie de procesos enzimáticos que involucran hidroxilaciones, metilaciones y ciclizaciones, produciendo los derivados terminales de cada una de las rutas.

Para la asignación de la posición relativa de los alcaloides que no han sido caracterizados en su ruta de biosíntesis, se siguieron las generalizaciones siguientes: el anillo se cierra con ácido glioxílico o ácido pirúvico; la hidroxilación en la posición C-5 ocurre cuando el anillo fue cerrado; la metilación en el nitrógeno es la última etapa de la biosíntesis (Flores, 2004).



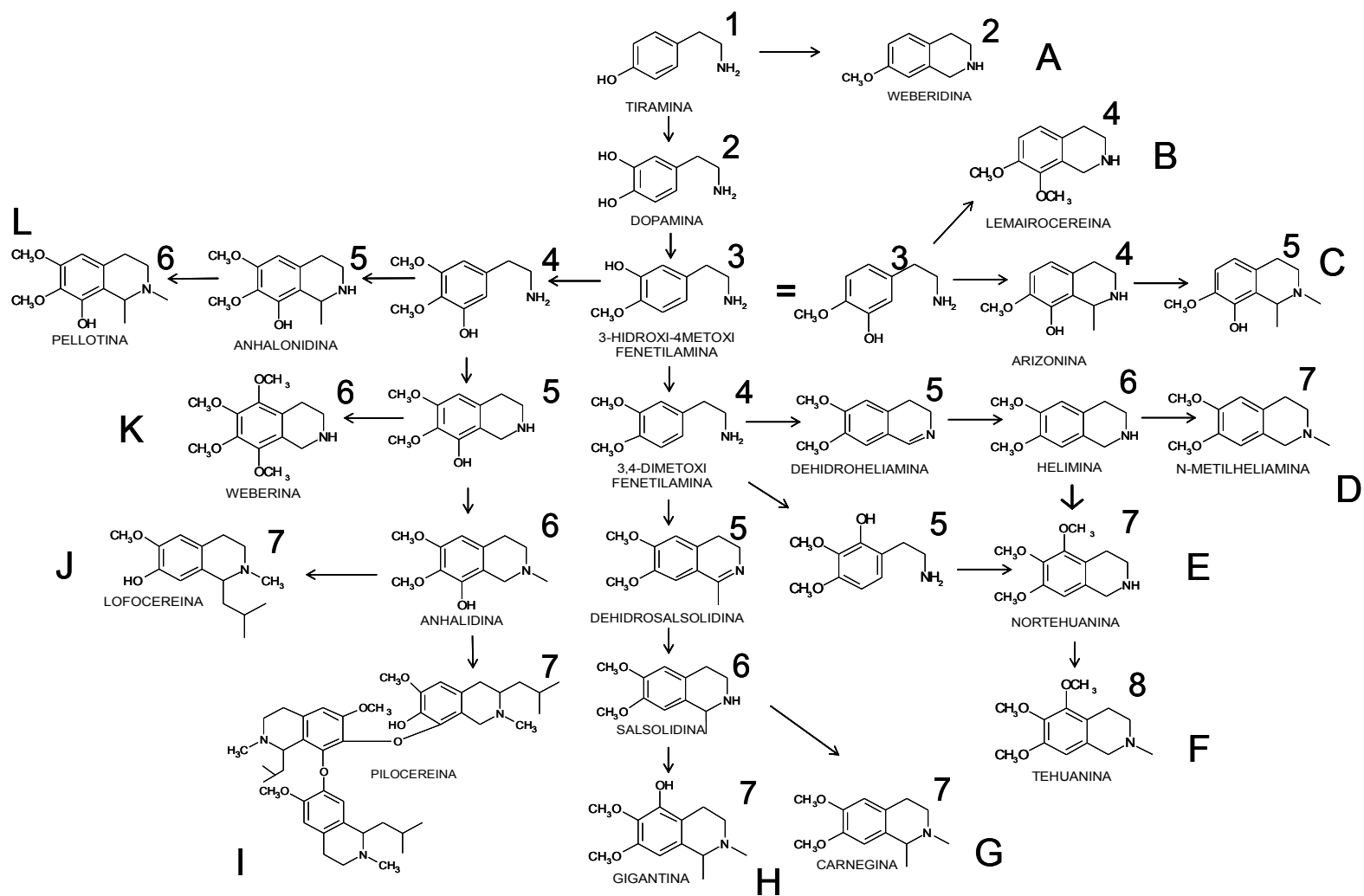


Fig. 15. Relaciones biosintéticas de los alcaloides presentes en *Pachycereus*. (Tomado de Flores, 2002, con algunas modificaciones)

Una vez complementada la ruta de biosíntesis de la Figura 15, los derivados terminales fueron considerados como caracteres y las posiciones relativas de cada uno de sus intermediarios como estados de carácter. De esta manera se presenta un esquema de codificación con 12 caracteres indicados con letras, en donde el carácter A finaliza con la obtención de weberidina, B con lemairocereina, C con N-metilarizonina, D con N-metiheliamina, E con nortehuanina, F con tehuanina, G con carnegina, H con gigantina, I con pilocereina, J con lofocereina, K con weberina y L con pellotina.

La matriz de datos correspondiente a la codificación de caracteres de alcaloides se puede observar en el Cuadro 6, donde se muestran los estados de carácter de cada especie de acuerdo a los alcaloides que presentan y la posición relativa de éstos en la ruta de biosíntesis presentada.

Cuadro 6. Estados de caracteres de alcaloides presentes en *Pachycereus* y *Neobuxbaumia*.

Especie	Carácter											
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
<i>P. fulviceps</i>	1	3	3	6	5	8	6	7	3	3	3	3
<i>P. hollianus</i>	1	3	5	4	4	4	7	6	4	4	4	6
<i>P. marginatus</i>	1	3	3	3	3	3	3	3	7	7	5	4
<i>P. militaris</i>	1	3	3	6	4	6	4	4	3	3	3	3
<i>P. pecten-aboriginum</i>	1	3	4	6	4	6	6	6	3	3	3	3
<i>P. pringlei</i>	1	4	3	6	4	8	4	4	5	5	6	4
<i>P. schoti</i>	1	3	3	3	3	3	3	3	7	7	5	4
<i>P. weberi</i>	2	4	3	7	7	8	6	6	5	5	6	6
<i>N. macrocephala</i>	1	3	3	4	4	4	6	6	6	6	5	4
<i>N. mezcalaensis</i>	1	3	3	6	4	6	4	4	3	3	3	3
<i>N. multiareolata</i>	1	3	3	4	4	4	6	6	6	6	5	4
<i>N. scoparia</i>	1	3	3	4	4	4	6	6	6	6	5	4
<i>N. tetetzo</i>	1	3	3	4	4	4	6	6	6	6	5	4

Caracteres: A: weberidina. B: lemairocereina. C: N-metilizarionina. D: N-metiheliamina. E: nortehuanina. F: tehuana. G: carnegina. H: gigantina. I: pilocereina. J: lofocereina. K: weberina y L: pelotina.

Esta matriz fue analizada utilizando el algoritmo de parsimonia mediante el programa WINCLADA 1.00.08 (Nixon, 2002). Se consideró a *Stenocereus stellatus* como grupo externo por no contener alcaloides. Se utilizó una búsqueda heurística de 500 réplicas. Se obtuvieron 249 cladogramas, seleccionándose el de menor número de pasos, el cual se muestra en la Figura 16 y consta de 94 pasos, con un índice de consistencia de 0.77 y un índice de retención de 0.69.

Como puede observarse existen claras asociaciones entre algunas especies. Uno de los clados mejor definidos está formado por *P. marginatus* y *P. shottii*, ya que comparten los mismos alcaloides (pilocereina y lofocerina); mientras tanto *P. hollianus* se localiza en el clado basal y se relaciona con las especies restantes de *Pachycereus*. Por otro lado *P. pringlei* se encuentra cercanamente relacionado con *P. weberi* por compartir cuatro alcaloides (tehuanina, heliamina, lemairocereina y weberina). Finalmente *P. fulviceps*, *P. militaris* y *P. pecten-aboriginum* se resuelven en un solo clado y no se observa una clara relación entre éstos.

Además se realizó la prueba de confianza de bootstrap, obteniéndose el cladograma de la Figura 17, en el que *P. marginatus* y *P. shottii* permanecen en un solo grupo (88%), como en el cladograma anterior. Sin embargo *P. fulviceps*, *P. hollianus*, *P. militaris*, *P. pecten-aboriginum* son mantenidos en un clado junto con el grupo formado por *P. pringlei* y *P. weberi*.

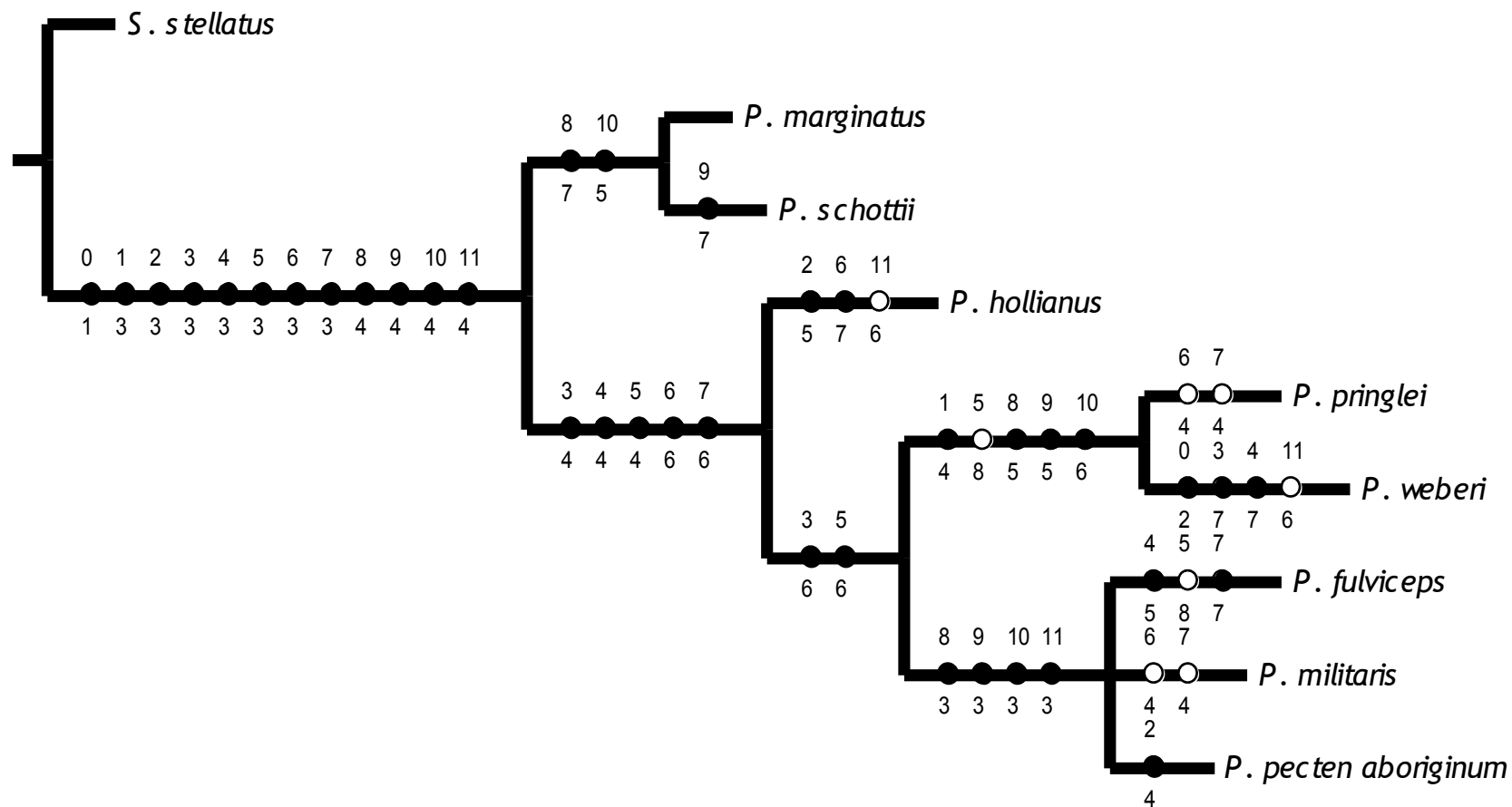


Fig. 16. Cladograma de los caracteres de alcaloides del género *Pachycereus* obtenido mediante el análisis de parsimonia. Los círculos cerrados representan sinapomorfías y los abiertos homoplasias. En la parte superior de las ramas se presenta el carácter y en la parte inferior el estado de carácter.

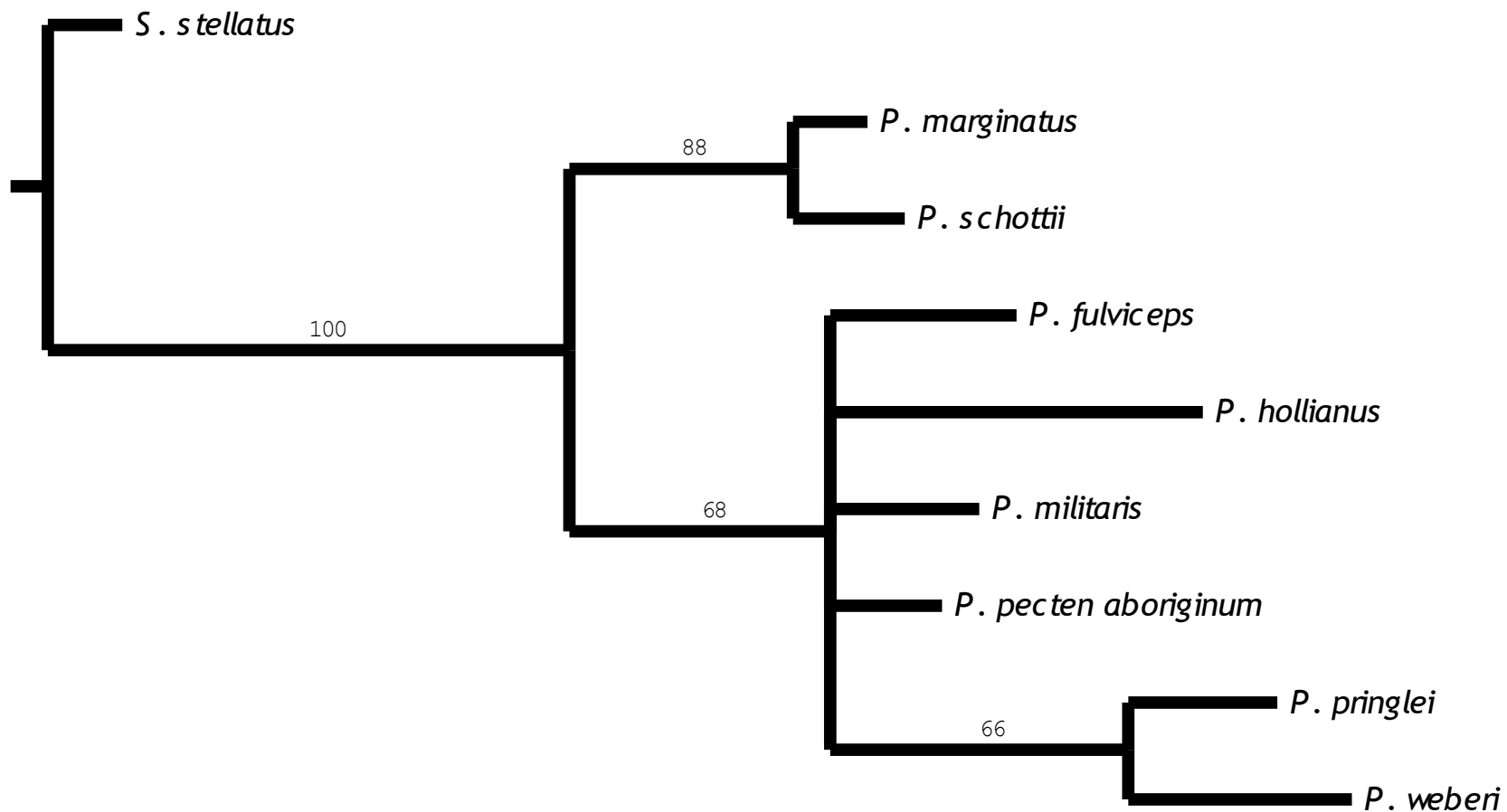


Fig. 17. Cladograma obtenido a partir de la prueba de confianza de bootstrap del género *Pachycereus*.

Posteriormente se realizó un análisis que incluyó a cinco especies de *Neobuxbaumia* que contienen alcaloides (Cuadro 5): *N. macrocephala*, *N. multiareolata*, *N. mezcalaensis*, *N. scoparia* y *N. tetetzo*. El cladograma obtenido por consenso estricto se presenta en la Figura 18, presenta 99 pasos, con un índice de consistencia de 0.73 y un índice de robustez de 0.74, además se realizó la prueba de confianza de bootstrap (Fig. 19).

*Pachycereus* resulta ser un género parafilético, ya que el clado formado por *P. marginatus* y *P. schotti* (con un 91% de bootstrap), no mantiene una relación cercana con resto de las especies de *Pachycereus*. Además existe una estrecha relación con el género *Neobuxbaumia*, incluso *N. mezcalaensis* se incluye en el grupo de *Pachycereus*, asociándose con *P. militaris* por la presencia de heliamina. *P. hollianus* mantiene su posición basal en el grupo de *Pachycereus*, de donde parten dos subgrupos: uno formado por *P. pringlei* y *P. schottii*, y otro por *P. pecten-aboriginum*, *P. fulviceps*, *P. militaris* y *N. mezcalaensis*, agrupadas por la presencia de heliamina.

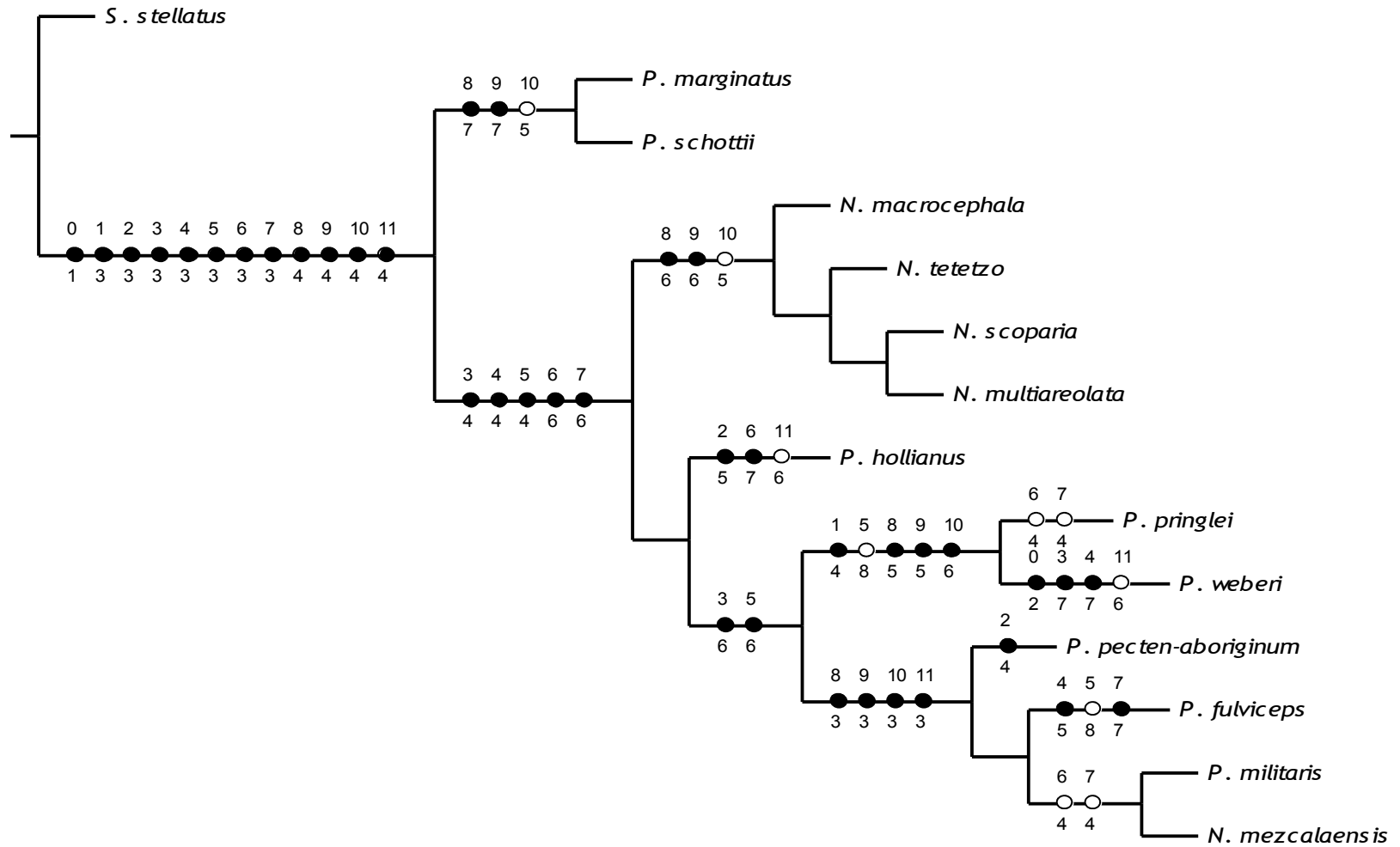


Fig. 18. Cladograma de caracteres de alcaloides empleados en el estudio de Parsimonia del género *Pachycereus* y *Neobuxbaumia*.



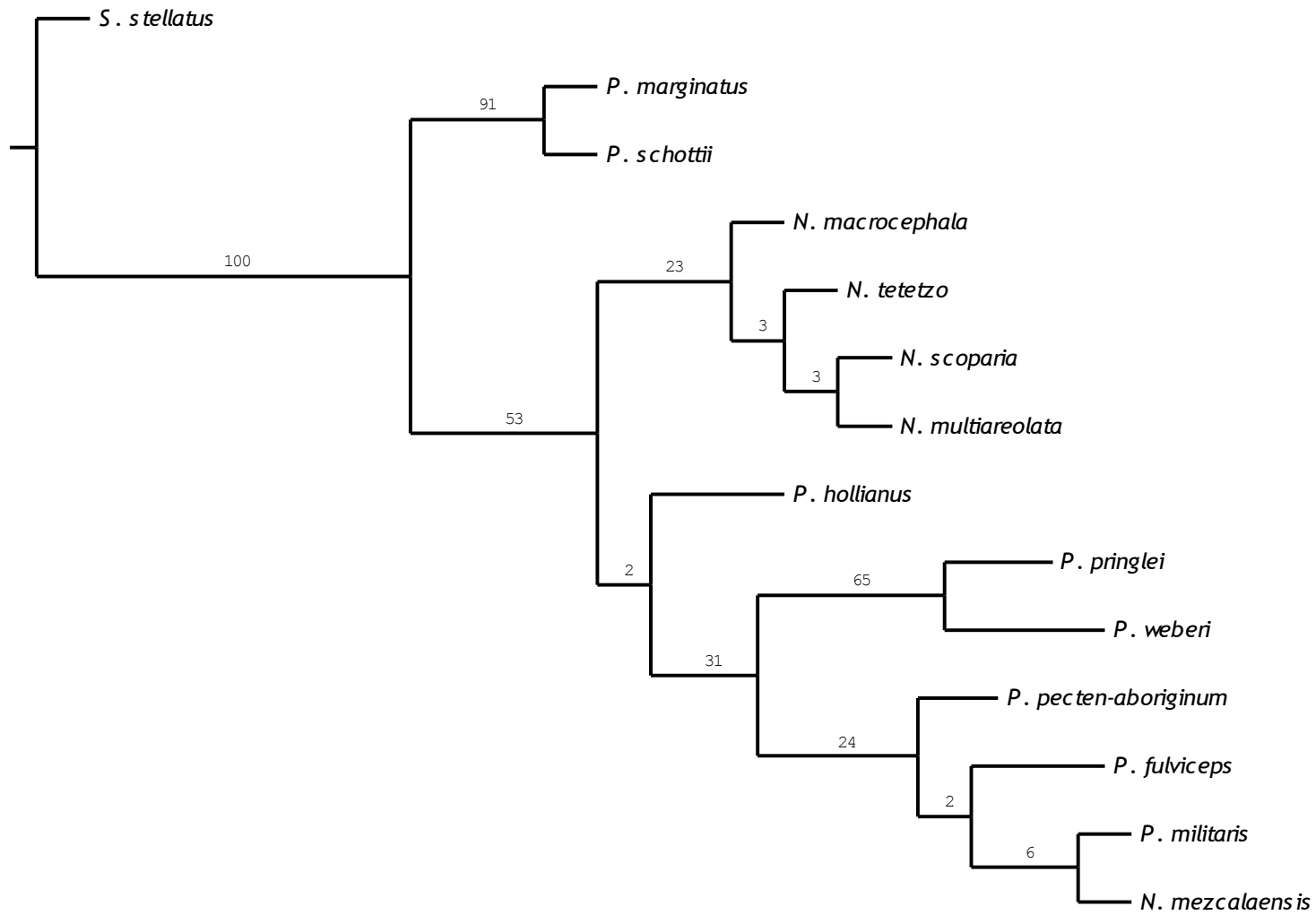


Fig. 19. Cladograma obtenido a partir de la prueba de bootstrap de los géneros *Pachycereus* y *Neobuxbaumia*.

## VII. Discusión

### Contenido de alcaloides

La acumulación de alcaloides en las especies de *Pachycereus* se puede discutir bajo una perspectiva evolutiva, con relación a los efectos fisiológicos que producen estos compuestos y las interacciones ecológicas que determinan. Se sabe que los alcaloides se acumulan en los tejidos como una forma de defensa en contra de herbívoros y patógenos (Caporale, 1995) y probablemente en relación al tipo de ataque que se presente en las plantas, la acumulación de alcaloides será diferente.

Los alcaloides encontrados en *P. fulviceps* se encuentran relacionados con heliamina, el cual había sido reportado anteriormente por Flores (2004), a pesar de no haber sido encontrado en este trabajo. Esto se explica considerando la ruta de biosíntesis (Fig. 15), en donde 3,4-dimetoxi-fenetilamina es el precursor de los otros tres alcaloides, siguiendo diferentes rutas. Así, con la presencia de un hidroxilo en la posición C-2, da origen a 2-hidroxi-3,4-dimetoxi-fenetilamina. En cambio, si el anillo fusionado se cicla con ácido glioxílico, rinde heliamina, que a su vez con la adición de un metoxilo en la posición C-5 y una N-metilación, origina tehuanina. Mientras que para que se origine gigantina, es necesaria una metilación y una ciclización mediante piruvato para rendir salsolidina, que posteriormente es hidroxilada en la posición C-5 y metilada en el nitrógeno tetrahidroisoquinolinico (Bruhn, 1976; Flores, 2004).

Por otra parte en *P. hollianus*, se encuentra dopamina, el cual es el precursor de la mayoría de los alcaloides, debido a que se deriva directamente de la tiramina. Si el anillo de la dopamina se cierra con piruvato rinde anhalonidina y

si se presenta una posterior N-metilación, se obtiene pelletina; pero si ocurre una metilación en la posición C-6 y se cicla con ácido pirúvico da origen a arizonina (Chalet, 1980 *in* Flores, 2004) y con una N-metilación se obtiene N-metilarizonina.

Además, 3,4-dimetoxi-fenetilamina origina salsolidina como se explicó anteriormente, y después es N-metilada para generar la carnegina (Bruhn y Lundstrom, 1976).

En *P. pecten-aboriginum* los alcaloides siguen las rutas anteriormente mencionadas, aunque cabe mencionar que ninguno es el producto final de las diferentes rutas de biosíntesis, por lo que probablemente esta especie antecedió a *P. fulviceps* y *P. hollianus*, ya que esta dos especies presentan alcaloides, productos finales de las diferentes rutas (gigantina y tehuana en *P. fulviceps* y carnegina, pelletina y N-metilarizonina en *P. hollianus*).

Los alcaloides heliamina y tehuana también se encuentran en *P. pringlei*, además de lemairocereina que se obtiene a partir de la dopamina cuando es metilada en la posición C-6 y el anillo fusionado se cicla con ácido glioxílico (Flores, 2004), y weberina.

*P. pringlei* comparte los cuatro alcaloides con *P. weberi*, siendo esta última la especie de *Pachycereus* que posee mayor cantidad de alcaloides, y a su vez muestra los estados más derivados en seis de las doce rutas de biosíntesis (lemairocereina, N-metilheliamina, pelletina, tehuana, weberidina y weberina), lo que sugiere que su origen es más reciente con respecto a las especies anteriormente mencionadas.

Por último *P. marginatus* y *P. schottii* comparten los mismos alcaloides (piloceredina, pilocereina y lophocerina), los cuales presentan las estructuras más

complejas que implican la adición de anillos, sobre todo en el caso de pilocereina, por lo que muestran un mayor avance evolutivo en la producción y tipo de tetrahidroisoquinolinas, ya que para su síntesis se requiere de un mayor número de pasos y su origen podría ser más reciente.

### **Análisis cladístico**

La presencia de alcaloides en 9 de las 13 especies de *Pachycereus*, es un carácter que contribuye a explicar las relaciones existentes entre los miembros de éste género, ya que se ha demostrado que las formas de alcaloides predominantes en los grupos más primitivos de cactáceas son del grupo de las  $\beta$ -fenetilaminas, en tanto que las tetrahidroisoquinolinas se presentan en la subfamilia Cactoideae y particularmente en la tribu Pachycereinae (Mata y MacLaughlin, 1982). A partir de esta ruta ancestral se derivan los géneros presentando novedades evolutivas que se reflejan en la continuación de esta ruta en común, y por lo tanto éste carácter permite hacer inferencias sobre la filogenia del género.

El análisis cladístico realizado en base a las especies que presentan alcaloides, muestra que *Pachycereus* es un género parafilético, apoyado por un gran número de sinapomorfías (Fig.16 y 18), lo cual concuerda con lo propuesto por Arias (2002), quien excluye a *P. fulviceps*, *P. hollianus*, *P. marginatus*, *P. militaris* y *P. shottii*. incluidas en este estudio, y a *P. gatessi*, *P. gaumeri*, *P. lepidanthus*, reconociendo únicamente como miembros de *Pachycereus* a *P. pringlei*, *P. weberi*, *P. tepamo*, *P. grandis* y *P. pecten-aboriginum*.

El clado formado por *P. marginatus* y *P. schottii* no presenta una relación cercana con el resto de las especies y entre éstas existe una fuerte asociación, apoyada por dos sinapomorfías, que son la presencia de pilocereina y lofocereina. Esta relación es apoyada por Terrazas y Cornejo (2002), en base a datos morfológicos y anatómicos, y Arias (2002), en un análisis combinado de datos morfológicos y moleculares, relacionan a *P. gatesii*, *P. schottii* y *P. marginatus* por una sinapomorfía morfológica: la presencia de una o más flores por areola, con valores de bootstrap y jackknife de 91%, para cada uno.

La separación de este clado con el resto de las especies, se debe a que los alcaloides que contienen son estados más evolucionados, es decir, presentan mayor complejidad en sus estructuras; aunque por su distribución geográfica podría sugerirse que la síntesis de éstos fue de manera independiente, ya que *P. marginatus* se encuentra en los estados de México, Michoacán, Morelia, Puebla y Oaxaca, en cambio *P. shottii* se distribuye más hacia el norte, en Sinaloa, Sonora, Baja California, Baja California Sur y en Arizona, Estados Unidos.

En el caso de *P. hollianus*, su posición basal en el cladograma se puede discutir en función de que los alcaloides que presenta en sus tejidos, son estados plesiomórficos en las rutas de biosíntesis de carnegina y gigantina. Arias *et al.* (2003), define a *P. hollianus* y *P. lepidanthus* como clado basal de la subtribu Pachycereinae. Debido a esta razón, su ubicación genérica ha estado sujeta a controversias, incluso Arias (2002), excluye a esta especie de *Pachycereus* colocándola dentro de *Lemairocereus*. Así mismo, en base a los resultados obtenidos en este trabajo, se considera que *P. hollianus* representa un clado basal debido a que los alcaloides que presenta, son compartidos con otras especies del

género, como salsolidina que se encuentra en *P. pecten-aboriginum* y *P. weberi*, siendo éstas especies reconocidas como pertenecientes a *Pachycereus* por Arias (2002); o bien son precursores del resto de los alcaloides, por lo que también puede estar relacionado con otros géneros como *Neobuxbaumia* o *Carnegia*. Además, tomando en cuenta su distribución que abarca los estados de Puebla y Oaxaca, particularmente en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, que es el centro de diversificación de la familia Cactaceae, pudo haber evolucionado y dar origen a otros géneros.

Otro clado bien definido y relacionado con *P. hollianus*, está formado por *P. pringlei* y *P. weberi* (bootstrap 63%), marcado por cuatro sinapomorfías: lemairocereína, tehuantina, weberina y heliamina. La relación entre *P. pringlei* y *P. weberi* es apoyada por Arias (2002), en base a dos sinapomorfías: la presencia de un surco interareolar y la forma de la flor.

Finalmente *P. fulviceps*, *P. militaris* y *P. pecten-aboriginum* se definen en un clado definido por la presencia de 3-hidroxi-4-metoxifenetilamina, que es precursor de 3,4-dimetoxifenetilamina. Entre ellos no hay una relación bien definida, porque presentan diferentes alcaloides, pero tanto *P. fulviceps* como *P. militaris* se consideran dentro del mismo linaje.

Por otro lado, en el análisis que incluye a las especies de *Neobuxbaumia* que presentan alcaloides, hay una relación de parentesco entre éstos dos géneros; además de presentarse una tendencia de agrupamiento similar al análisis anterior en las especies de *Pachycereus*, lo que apoya que es un grupo parafilético, ya que se mantiene la separación de *P. marginatus* y *P. schottii*.

Mientras tanto, el grupo de *Neobuxbaumia*, formado por *N. macrocephala*, *N. tetetzo*, *N. scoparia* y *N. multiareolata*, se define por la presencia de anhalidina, ya que carnegina y salsolidina están también presentes en las especies de *Pachycereus*. De acuerdo con Flores, *et al.* (2003), éstas especies están íntimamente relacionadas dentro del género y a su vez se diferencian de la especie de *N. mezcalaensis*, en la cual se ha detectado un alcaloide diferente a las tres primeras.

En el caso de *N. mezcalaensis*, se separa claramente del grupo de *Neobuxbaumia*, ya que solo presenta heliamina, y se agrupa con *P. militaris*, lo que sugiere el reacomodo genérico de esta especie, tomando en cuenta otros caracteres, y contemplar la posibilidad de que pertenezca a *Pachycereus*.

Por otro lado, llama la atención el hecho de que de las trece especies consideradas para el género *Pachycereus*, solo se registró presencia de estos compuestos en 9 especies: *P. fulviceps*, *P. gaumeri*, *P. hollianus*, *P. margiantus*, *P. militaris*, *P. pecten-aboriginum*, *P. pringlei*, *P. schottii* y *P. weberi*, mientras que de las nueve especies de *Neobuxbaumia*, solo se presentan alcaloides en 5 especies (*N. macrocephala*, *N. mezcalaensis*, *N. multiareolata*, *N. scoparia* y *N. tetetzo*), lo cual puede poner en duda la sinapomorfia de capacidad de producir alcaloides en las especies de la subtribu Pachycereeinae señalada por Gibson y Horak, (1978).

Con respecto a la distribución geográfica del género *Pachycereus*, se ha propuesto una hipótesis sobre la filogenia de toda la tribu Pachycereeae (Gibson *et al* 1986), en la cual, con base a los caracteres morfológicos y fitoquímicos de los géneros de la tribu, se sugiere que la especiación de este grupo de Cactáceas, se

ajusta a un modelo alopátrico, en donde las especies que se encuentran más hacia el norte, son los grupos más derivados y probablemente los de origen más reciente. En este sentido, las especies del género *Pachycereus* que presentan una distribución más norteña, como es el caso de *P. pringlei* y *P. schottii*, serían los candidatos para proponerlos como taxones de más reciente formación. Aunque cabe mencionar que una excepción para este caso es *P. marginatus*, ya que al igual que *P. schottii* presentan los estados más evolucionados, mismos que podrían indicar su origen reciente.



## VIII. Conclusiones

- El contenido de alcaloides en *P. fulviceps* es mayor del que se había reportado anteriormente, encontrándose cuatro alcaloides más, dos pertenecientes al grupo de las  $\beta$ -fenetilaminas: 3,4-dimetoxifenetilamina y 2-hidroxi-3,4-dimetoxifenetilamina, y dos del tipo de las tetrahidroisoquinolinas: gigantina y tehuanina.
- En *P. fulviceps*, se encontraron dos alcaloides que no habían sido reportados: carnegina y N-metilarizonina.
- La presencia de alcaloides en 9 de las trece especies de *Pachycereus*, demuestra que el contenido de éstos es un carácter que contribuye en el establecimiento de las relaciones existentes entre los miembros del género, así como en su taxonomía.
- El género *Pachycereus* es un grupo parafilético, en donde se presentan estados de alcaloides tanto plesiomórficos como apomórficos, lo que indica que está conformado por especies de origen reciente y de especies ancestrales como *P. hollianus*, que pudieron haber evolucionado y haber dado origen a otras especies e incluso de otros géneros.
- *P. fulviceps* y *P. hollianus* pertenecen al género *Pachycereus*, aunque se recomienda hacer un análisis con caracteres diferentes.
- El clado formado por *P. marginatus* y *P. schotti*, se separa del género *Pachycereus*, por lo que debe ser analizado con otros caracteres para determinar su posición taxonómica.
- *Pachycereus* se encuentra cercanamente relacionado con *Neobuxbamia*.

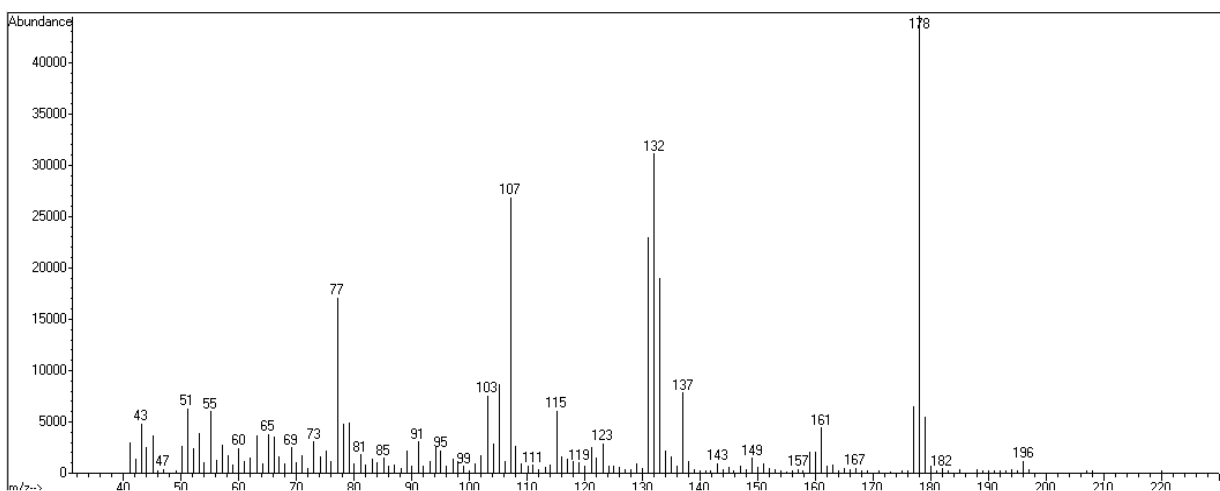
- La posición genérica de *Neobuxbaumia mezcalaensis* es modificada, ya que de acuerdo al contenido de alcaloides debe ser incluida en *Pachycereus*.

## IX. Apéndice

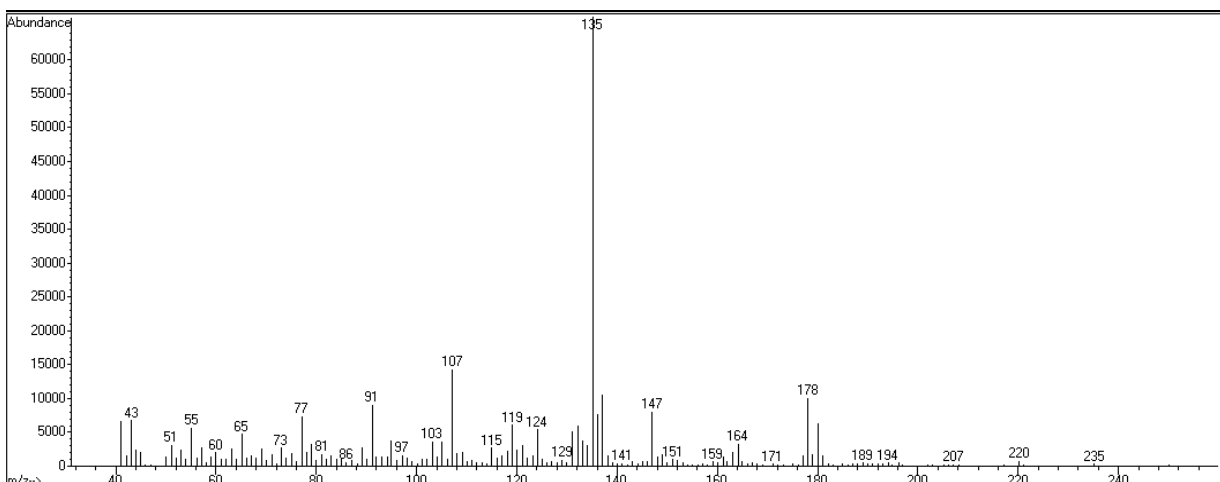
Espectros de masas de los alcaloides que no fueron identificados.

### *Pachycereus fulviceps*

Tetrahidroisoquinolina

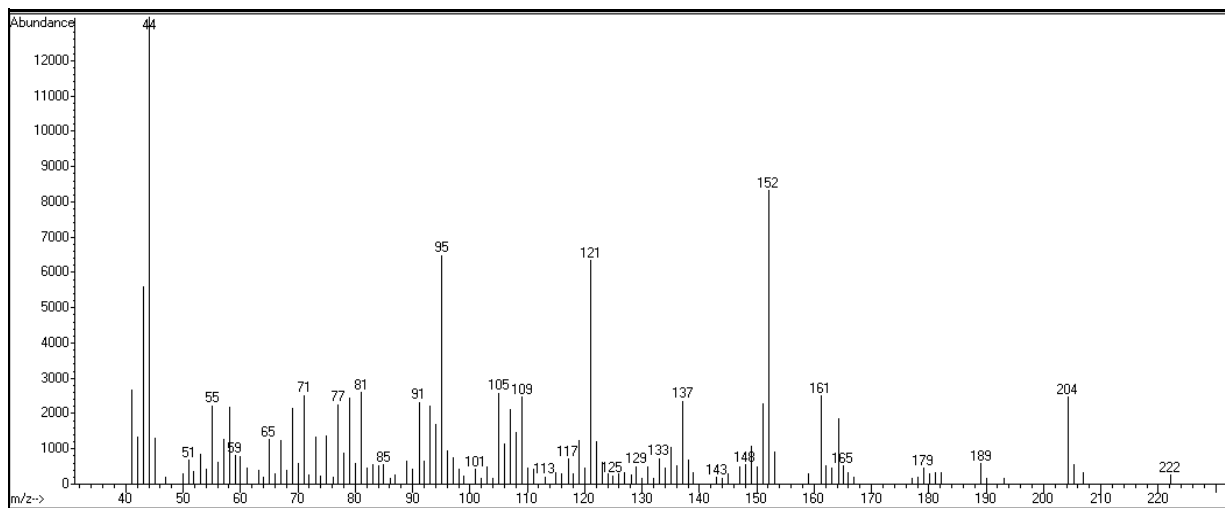


$\beta$ -fenetilamina

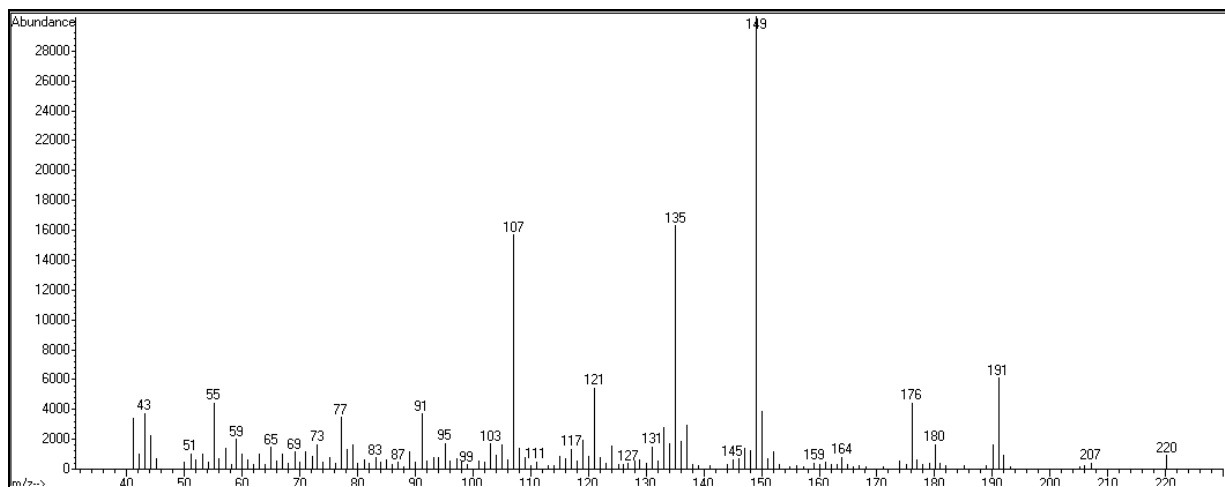


## *Pachycereus hollianus*

### $\beta$ -fenetilamina



### Tetrahidroisoquinolina



## X. Referencias Bibliográficas

- Anderson, E. F. 2001. *The cactus family*. Portland: Timber Press.
- Arias, S. 2002. Filogenia del género *Pachycereus* (Pachycereeae, Cactaceae). Tesis Doctorado, Colegio de Posgraduados, México.
- Arias, S., Terrazas, T. y Cameron, K., 2003. Phylogenetic analysis of *Pachycereus* (Cactaceae, Pachycereeae) based on chloroplast and nuclear DNA sequences. *Systematic Botany*. 28: 547-557.
- Backeberg, C. 1938. Blatter fur Kakteenforschung. *Bulletin Cactus Research*. 8. 21.
- Barkman, T. J. 2001. Character coding of secondary chemical variation for use in phylogenetic analysis. *Biochemical Systematics and Ecology*. 29: 1-20.
- Barthlott, W. y Hunt D. R. 1993. Cacteaceae. En: K. Kubitzki (ed.) The families and genera of vascular plants. Springer-Verlag, Berlin. pp. 191-167.
- Barthlott, W. y Hunt D. R. 2000. Seed diversity in the Cactaceae subfamily Cactoideae. *Succulent Plant Research*. 5: 1-173.
- Batis, I. A. y Rojas-Aréchiga M. 2002. El peyote y otros cactus alucinógenos de México. *BioDiversitas*, 40: 12-16.
- Berger, A. 1905. A systematic revisión of the genus *Cereus*. Annual Report of the Missouri Botanical Garden. 16: 57-86.
- Bracca, A. B. J. y Kaufman T. S. 2004. Synthetic approaches to carnegine, a simple tetrahydroisoquinoline alkaloid. *Tetrahedrom*. 60: 10575-10610.
- Bravo-Hollis, H. 1953. Un nuevo género de la familia de las cactáceas *Bakebergia*. *Annales del Instituto de Biología*. Universidad Nacional Autónoma de México. 24: 215-232.

- Bravo-Hollis, H. 1978. Las cactáceas de México. Vol. 1. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Britton, N. L. y Rose J. N. 1919-23. The Cactaceae. Vol. 4. Washington D. C. Carnegie Institution.
- Bruhn, J. G. y Lingrees, J. E. 1976. *Lloydia*. 39: 175-177.
- Buxbaum, F. 1958. The phylogenetic division of the subfamily Cereoideae, Cactaceae. *Madroño*. 14: 177-206.
- Buxbaum, F. 1961. Die Entwicklungslinien der tribus Pachycereae – F. Buxb. *Botanische Studien*. 12: 1-107.
- Caporale, L. H. 1995. Chemical ecology: a view from the pharmaceutical industry. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 92: 75-82.
- Cota, J. H. 1996. La citología y la sistemática molecular en la familia Cactaceae. *Cact. Suc. Mex.* 41: 27-43.
- Cota, J. H. y Wallace R. S. 1997. Chloroplast DNA evidence for divergence in *ferocactus* and its relationships to North American columnar cacti (Cactaceae: Cactoideae). *Systematic Botany*. 22: 529-542.
- Dávila, P., Arias S., Lira R. 2002. Phytogeography of columnar cacti (Tribe Pachycereae). En *Columnar cacti and their mutualists*. Fleming, T. y Valiente-Banuet Eds. The University of Arizona Press. pp. 25-41.
- Flores, O. C. M., Dávila P. y Portilla L. B. 2003. Alkaloids from *Neobuxbaumia* species (Cactaceae). *Biochemical Systematic and Ecology*. 31: 581-585.
- Flores, O. C. M. 2004. Quimiotaxonomía del género *Neobuxbaumia*, Tesis Doctorado, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. México.

- Gibson, A. C. y Horak K. E. 1978. Systematic anatomy and Phylogeny of Mexican columnar cacti. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 65: 999-1097.
- Gibson, A. C., Spencer K., Bajaj R. y McLaughlin, J. 1986. The ever-changing landscape of cactus systematics. *Annals of the Missouri Botanical Garden.* 73: 532-555.
- Gibson, A. C. y Nobel S. P. 1990. *The Cactus primer*, Harvard University Press. Cambridge.
- Goloboff P. 1999. NONA Ver 2. Published by the author. Tucumán, Argentina.
- Heath, P. V. 1992. The restoration of *Rathbunia* Britton & Rose, Calix (Brighton, England), 2: 102-115.
- Hunt, D. y Taylor N. 1990. The genera of Cactaceae: progress towards consensus. *Bradleya.* 8: 85-107.
- Mata, R. y McLaughlin J. R. 1980a. Cactus alkaloids XLV. Tetrahydroisoquinolines from mexican Ceroid *Pachycereus pringlei*. *Planta Medica.* 38: 180-182.
- Mata, R. y McLaughlin J. R. 1980b. Lemairin, a new glucoside from the mexican cactus: *Pachycereus weberi*. *Journal of Natural Products.* 43: 411-413.
- Mata, R. y McLaughlin J. R. 1982. Tetrahydroisoquinoline Alkaloids of the mexican columnar cactus *Pachycereus weberi*. *Phytochemistry.* 19: 673-678.
- MacDougall, T. y Miranda F. 1954. *Pterocereus*. En: F. Miranda. Nuevas plantas de Chiapas. *Ceiba* 4: 135-140.
- Nixon, K. C. 2002. WinClada ver 1.00.08 Published by the author. Itaca, NY, USA.
- Nobel, S. P. 1988. *Environmental biology of agaves and cacti*. Cambridge University Press.

- Nyffeler, R. 2002 Phylogenetic relationships in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from *tmK* / *matK* and *tmL-tmF* sequences. *American Journal of Botany*. 89: 312-326.
- Terrazas T. y Loza-Cornejo S. 2002. Phylogenetic Relationships of Pachycereeae: A Cladistic Analysis Based on Anatomical-Morphological Data. En *Columnar cacti and their mutualists*. The University of Arizona Press. Fleming T. y Valiente-Baunel Eds. pp. 66-86.
- Pummangura S., Mohamed Y. A. H., Chang C. J. y McLaughlin J. L. 1982. Two simple tetrahydroisoquinoline alkaloid *N*-oxides from cacti. *Phytochemistry*. 21. pp. 2375-2377.
- Raffauf R. F. 1996. Plant alkaloids: A guide to their discovery and distribution. Food Products Press and the Haworth Press. New York. pp. 279.
- Reyes, S. J., Brachet I. C., Pérez C. J. y Gutiérrez R. A. 2004. Cactáceas y otras plantas nativas de la Cañada, Cuicatlán, Oaxaca. Instituto de Biología. UNAM. México.