

POLIFENOLES DE LA CORTEZA DE LOS OLMOS Y SU RELACIÓN CON EL ATAQUE DE LOS INSECTOS VECTORES DE LA GRAFIOSIS

García Vallejo, M.C.¹; Hernández García, M.T.²; Estrella Pedrola, I.²; Pajares Alonso, J.A.³; Martín Benito, D.⁴; López Muñoz, D.¹

¹ CIFOR-INIA, Ctra. de La Coruña km 7,5. 28040-Madrid (garcival@inia.es).

² Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC, Juan de la Cierva, 3, 28006-Madrid (thernandez@ifi.csic.es).

³ ETSI Agrarias, Universidad de Valladolid. Avda. Madrid, 44, 34004-Palencia, (jpajares@pvs.uva.es).

⁴ Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC, Serrano 115-dpdo, 28006 Madrid

Resumen

Se estudian los extractos en metanol del floema de ramas de 2-4 años de *Ulmus glabra*, *U. laevis*, *U. minor* y *U. pumila*, especies que presentan distinto grado de atractividad frente a los escolítidos vectores de la grafiosis, siendo *U. glabra* y *U. laevis* los menos atractivos y *U. minor* y *U. pumila* las especies más preferidas. Los extractos metanólicos contienen principalmente taninos condensados o proantocianidinas (procianidinas y prodelfinidinas), mayoritariamente en forma de dímeros, así como catequinas y, en menor proporción, ácidos fenólicos. Las especies estudiadas se diferencian en el tipo y concentración de estos compuestos. En *U. minor* y *U. pumila* se detectan mayoritariamente catequina y dímeros de procianidina en forma libre y glicosilada. *U. glabra* presenta las concentraciones más bajas de catequina libre y glicosilada y las más altas de epicatequina y epicatequina-pentosa. Y, *U. laevis* se diferencia del resto de las especies estudiadas por contener oligómeros de prodelfinidinas. Los ácidos fenólicos fueron más abundantes en las especies poco atractivas a los escolítidos. Se discute el potencial fagoestimulante o fagodisuasor de estos compuestos en relación con la diferente preferencia de los escolítidos entre las especies de olmo.

Palabras clave: *Ulmus*, taninos condensados, ácidos fenólicos, escolítidos.

INTRODUCCIÓN

Como continuación del estudio que estamos realizando sobre la composición química del floema de los olmos, con el fin de seleccionar árboles resistentes al ataque de los escolítidos, vectores de la grafiosis (MARTÍN BENITO *et al.*, 2004, 2005), abordamos ahora el estudio de los polifenoles presentes en los extractos metanólicos de la corteza.

La composición polifenólica de la corteza de los olmos ha sido poco estudiada. Sin embargo, se han identificado (+)-catequina, epicatequina y proantocianidinas en *Ulmus minor* y otras especies europeas (BEDNARSKA, 1963; FEUTCH *et al.*, 1992) y un glicósido de la catequina, el (+)-catequin-7- β -D-xilopiranosido, en *U. americana* (DOSKOTCH *et al.*, 1970, 1973).

En un informe técnico del *Forest Products Laboratory* del *U.S. Department of Agriculture* (ANÓNIMO, 1979) se recoge la mayor parte de la bibliografía existente sobre la composición polifenólica de la madera de duramen del olmo, basada en estudios realizados sobre extractos de la madera de seis especies de olmos americanos. Se cita la presencia de lignanos (ácidos tomásico y tomasidioico, lioniresinol y lioniresinol-O-ramnósido), ácidos naftónicos y lactonas (ácido 6-hidroxi-5,7-dimetoxi-2-naftoico y lactona del ácido 6-hidroxi-3-hidroximetil-5,7-dimetoxi-2-naftoico) y 5 fenoles sesquiterpénicos derivados del 7-hidroxicadalenol.

Los polifenoles de las hojas de los olmos han sido estudiados ampliamente con fines quimiotaxonómicos. BATE-SMITH & RICHENS (1973) identificaron y valoraron miricetina, delfinidina, quercetina, cianidina y kaempferol en los hidrolizados ácidos de hojas de 22 especies de *Ulmus*, entre ellas las 4 especies objeto de nuestro estudio. Estos polifenoles procedían, en su mayor parte, de la hidrólisis de glicósidos de flavonoles, procianidinas y prodelfinidinas. Entre los glicósidos identificados figuran la quercetina-3,7-diglucósido, presente en *U. laevis*, y la quercetina-3-glucuronido, detectado en los grupos taxonómicos en los que se incluyen *U. glabra*, *U. minor* y *U. pumila* (SANTAMOUR, 1972). Más recientemente, HEIMLER *et al.* (1990, 1993, 1994) han estudiado la composición polifenólica de *U. pumila* y de otras 3 especies (*U. japónica*, *U. parvifolia* y *U. carpinifolia*) detectando 8 glicósidos flavonoides, de los que 3 fueron identificados como rutina, quercitrina e isoquercitrina, y 12 ácidos fenólicos (cafeico, *trans*-cinámico, *o*-cumárico, *trans-p*-cumárico, ferúlico, gálico, gentísico, *p*-hidroxibenzoico, protocatéquico, salicílico, siríngico y vainillínico). Estos autores han estudiado también cómo influye el ataque de la grafiosis en la concentración de flavonoides y ácidos fenólicos en las hojas, observando que aumenta el contenido de flavonoides y disminuye el de ácidos fenólicos (HEIMLER *et al.*, 1994).

Se ha demostrado que algunos de los polifenoles identificados en los olmos son fagoestimulantes para *Scolytus multistriatus*. DOSKOTCH *et al.* (1970) identificaron, entre los fagoestimulantes presentes en la corteza del olmo, a la (+)-catequina-7- β -D-xilopiranosido. Más tarde se demostró que el derivado tritiado de la catequina penetra en el receptor gustatorio de ese insecto (BORG & NORRIS, 1971). MEYER & NORRIS (1974) comprobaron la actividad fagoestimulante de compuestos fenólicos precursores de la lignina. Estos autores observaron que los dihidroxibencenos y los hidroxibenzaldehídos con sustituyentes en posiciones 1,4 del anillo bencénico fueron los más activos; disminuyendo progresivamente la actividad cuando las sustituciones estaban en posiciones 1,3 y 1,2. La presencia de un metoxilo adyacente a un grupo 4-hidroxilo en los aldehídos benzoicos disminuía la fagoestimulación y la sustitución de un hidroxilo por un metoxilo en los 1,2-dihidroxibencenos anulaba dicha actividad.

No todos los olmos presentan la misma atractividad frente a los insectos vectores de la grafiosis. *U. glabra* y *U. laevis* son mucho menos atractivos que *U. minor* (WEBBER, 2000; PAJARES *et al.*, 2004). Parece que la corteza, el sustrato para la alimentación de los escolítidos, puede jugar un papel importante en la selección del hospedante por estos insectos, por lo que es interesante el estudio de la composición polifenólica de la corteza de las ramas de estas especies en

relación con su mayor o menor atractividad hacia los insectos vectores de la grafiosis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras

La mayoría de las muestras estudiadas de *Ulmus glabra*, *U. laevis*, *U. minor* y *U. pumila*, se tomaron de árboles de 5 a 12 años, de distintas procedencias, cultivados en el Banco Clonal de la DGCONA-ETSIM. Una de las muestras de *U. glabra* (AV-CA2) corresponde a un árbol de más de 50 años localizado en un monte del municipio de Casillas (Avila). Los datos sobre la identificación de todos los árboles estudiados se recogen en la Tabla 1.

De cada uno de los árboles estudiados se cortaron ramas de 2-4 años orientadas en tres direcciones distintas, para homogeneizar las muestras y reducir el efecto de posición.

Preparación de los extractos

Las muestras se llevaron al laboratorio el mismo día de su recolección; se separó la corteza de las ramas y se cortó en trozos de 3-5 mm. Un peso conocido de la corteza troceada de cada muestra (≈ 10 g) se extrajo, durante 48 h en oscuridad y a temperatura ambiente, con 50 mL de metanol. El extracto se filtró y se eliminó el metanol en rotavapor a < 40 °C; se diluyó con agua destilada y se liofilizó. Parte de los extractos liofilizados se extrajeron con éter etílico/éter de petróleo (50:50) (EE/EP), con el fin de obtener fracciones ricas en polifenoles de bajo peso molecular. Estos extractos se llevaron a sequedad, en corriente de N_2 , conservándolos a 4 °C hasta su análisis cromatográfico.

Análisis cromatográfico

Los extractos metanólicos liofilizados y sus fracciones solubles en EE/EP fueron redisueltos en metanol y analizados por cromatografía de líquidos de alta resolución con detector de matriz de fotodiodos (HPLC-PAD). La identificación de los picos cromatograficos (Tabla 2) se ha realizado por comparación de los tiempos de retención, espectros UV y datos de parámetros espectrales (BARTOLOMÉ *et al.*, 1996), con los patrones comerciales de los que se dispone. Otros compuestos que presentan la misma forma y longitud de onda máxima del espectro UV que las procianidinas y prodelfinidinas, de los que no se dispone de patrones, fueron identificados en base al estudio de los parámetros espectrales de UV y confirmados por HPLC-MS(ESI) (DUEÑAS *et al.*, 2004).

Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes:

Análisis HPLC-PAD.- El sistema cromatográfico utilizado consta de un detector de fotodiodos (PAD) 996 (Waters Milford, Mass, USA), columna Nova-Pack C18 (300x3.9 mm ID, 4 μ m de tamaño de partícula). Se emplearon dos fases móviles, A agua/ácido acético (98:2) y B agua/acetronitrilo/ácido acético (78:20:2) y un perfil de gradiente de 0-55 min, 100-20 % de A; 55-70 min, 20-10 % de A; 80-90min 100% de B con un flujo de 1-1.2 ml/min.. Detección mediante barrido de 210 a 400 nm con adquisición de datos de 1s.

Análisis HPLC-MS.- Los espectros de masas se obtuvieron con un cromatógrafo Hewlet Pakard 11000 MS (Palo Alto, California) equipado con una fuente API, utilizando como interfase ionización por electrospray (ESI). Las condiciones de análisis fueron las mismas que las descritas en HPLC-PAD. Los parámetros del ESI fueron, temperatura 340°C, flujo del gas de secado (N_2) 10ml/min, presión del nebulizador (N_2) 40psi, voltaje del capilar 4000V. Se trabajó en modo negativo. Se aplicó un voltaje de fragmentación variable 100V ($m/z \leq 200$), 200V ($m/z 200-100$), 250 V($m/z 1000-2500$). Los espectros de masas se registraron de m/z 100 a m/z 2500.

La cuantificación se realizó con patrón externo. Las curvas de calibrado fueron obtenidas por inyección de diferentes volúmenes de la solución de los patrones comerciales en las mismas condiciones que las de las muestras analizadas. Los glicosidos de catequinas y las proantocianidinas se cuantificaron con la curva de calibrado de (+)catequina, y el glicósido de quercetina (rutina), con la curva de la aglicona quercetina.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los extractos en metanol y las fracciones solubles en EE/EP se obtuvieron, respectivamente, con los siguientes rendimientos medios, sobre muestra de corteza seca: *U. minor*, 16,36 % y 0,06 %; *U. glabra*, 7,72 % y 0,30 %; *U. laevis*, 15,00 % y 0,21 %; y *U. pumila*, 13,45 % y 0,03 %. Como puede observarse, las especies menos atractivas para los escolítidos (*U. laevis* y *U. glabra*) presentan rendimientos algo inferiores de extractos metanólicos con concentraciones de polifenoles de bajo peso molecular muy superiores a los obtenidos de *U. minor* y *U. pumila*, especies más atractivas.

En la Fig. 1 se muestran los cromatogramas de HPLC de los extractos metanólicos de muestras de corteza de ramas de las cuatro especies estudias y se identifican los compuestos correspondientes a los picos más abundantes. Las Tablas 3 y 4 recogen los resultados del análisis cuantitativo de los extractos metanólicos de las muestras estudiadas y de las fracciones solubles en EE/EP.

Como se observa en la Tabla 3, los extractos metanólicos están formados fundamentalmente por procianidinas y prodelfinidinas, mayoritariamente en forma de dímeros, (+) catequina, (-) epicatequina y algunos derivados glicosilados en los que el azúcar fue en casi todos los casos una pentosa. La catequina-pentosa detectada podría ser la (+)-catequina-7- β -D-xilopiranosido, identificada por DOSKOTCH *et al.* (1973) en *U. americana*, que presenta una marcada actividad fagoestimulante frente a *Scolytus multistriatus*.

Es de destacar la existencia de varios compuestos que permiten diferenciar las especies atractivas de las no atractivas para los vectores de la grafiosis. Una procianidina dímero glicosilada con una pentosa, muy abundante en *U. minor* y *U. pumila* y ausente o en muy baja concentración en las otras especies, podría tener una actividad fagoestimulante; mientras que la procianidina dímero B₂ (epicatequina-epicatequina), presente solamente en *U. glabra*, en concentración alta, podría actuar como fagodisuasor. Las tres prodelfinidinas diferencian *U. laevis* del resto de las especies y tienen una potencial actividad fagodisuasora. La rutina (quercetina-3-rutinósido) únicamente presente en *U. minor* podría ser un fagoestimulante para los escolítidos. .

Las fracciones de los extractos metanólicos, solubles en EE/EP (tabla 4), están formadas por 7 ácidos fenólicos entre los que destacan los ácidos cafeico, protocatéquico y vainillínico. También se han identificado 2 aldehídos (aldehído protocatéquico y vainillina) y las cumarinas escopoletina y esculetina. *U. laevis* y *U. glabra*, considerados menos atractivos para los escolítidos que *U. minor*, se caracterizan por la presencia de cumarinas, ausentes en *U. minor*, y por una concentración mucho mayor de ácidos fenólicos.

De estos resultados parece deducirse que la procianidina dímero B₂ y las prodelphinidinas, así como un contenido alto de cumarinas y ácidos fenólicos pueden conferir un cierto carácter fagodisuasor a las especies de olmos menos preferidas por los escolítidos.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Prof. Luis Gil su apoyo y orientación en la realización de este trabajo, y a Dña. Margarita Burón la ayuda prestada en la selección y recolección de las muestras. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto RTA01-036.

BIBLIOGRAFÍA

- ANÓNIMO; 1979. Extractives in eastern hardwoods – A review. *Forest Service Report FPL 18*. General Technical Forest Products Laboratory. U.S. Department of Agriculture. Madison, Wisconsin.
- BARTOLOMÉ, B.; HERNÁNDEZ, T.; BENGOCHEA, M.L.; QUESADA, C.; GOMEZ-CORDOVÉS, C.; ESTRELLA, I.; 1996. Determination of some structural features of procyanidins and related compounds by photodiode-array detection. *J. Chrom.*, 723:19-26.
- BATE-SMITH, E.C. & RICHENS, R.H.; 1973. Flavonoid chemistry and taxonomy in *Ulmus*. *Biochem. Syst.* 1:141-146.
- BEDNARSKA, D.; 1963. Tannin content of domestic species of the genus *Ulmus*. III. Chromatographic analysis. *Diss. Pharm.* 15:87-93.
- BORG, T.K. & NORRIS, D.M.; 1971. Penetration of H³-catechol, a feeding stimulant, into chemoreceptor sensilla of *Scolytus multistriatus*. *Ann. Ent. Soc. Am.* 64:544-547.
- DOSKOTCH, R.W.; CHATTERJI, S.K. & PEACOCK, J.W.; 1970. Elm bark derived feeding stimulants for the smaller European elm bark beetle. *Science* 167:380-382.
- DOSKOTCH, R.W.; MIKHAIL, A.A. & CHATTERJI, S.K.; 1973. Structure of the water-soluble feeding stimulant for *Scolytus multistriatus*: A revision. *Phytochemistry*. 12:1153-1155.
- DUEÑAS, M.; ESTRELLA, I.; HERNANDEZ, T.; 2004. Occurrence of phenolic compounds in the seed coat and the cotyledon of peas (*Pisum sativum* L.). *Eur Food Res Technol.*, 219:116-123
- FEUCHT, W.; TREUTTER, D. & CHRIST, E.; 1992. Localization and quantitative determination of catechins and proanthocyanidins in the phloem of elm and cherry. *Tree Physiol.*, 10:169-177.
- HEIMLER, D.; MITTEMPERGHER, L.; BUZZINI, P. & BODDI, V.; 1990. Quantitative HPTLC separation of flavonoid glycosides in the taxonomy of elm (*Ulmus* spp.). *Chromatographia*, 29: 16-20.
- HEIMLER, D.; PIERONI, A.; MITTEMPERGHER, L. & BUZZINI, P.; 1993. The use of flavonoid glycosides for the identification of hybrids. *Can. J. For. Res.*, 23: 611-616.
- HEIMLER, D.; MITTEMPERGHER, L. & PIERONI, A.; 1994. Plant phenolics in elms (*Ulmus* spp.) infected by Dutch elm disease fungus (*Ophiostoma ulmi*). *Acta Horticulturae* 381: 638-641.
- MARTÍN, D.; GARCÍA VALLEJO, M. C.; PAJARES, J. A.; LÓPEZ, D. & DÍEZ, J. J.; 2004. Elm bark components and their influence on bark beetle feeding. *Invest. Agrar.: Sist. Recur. For.* 13:227-236.
- MARTIN, D.; GARCIA VALLEJO, M. C.; PAJARES, J. A. & LOPEZ, D.; 2005. Triterpenes in elms in Spain. *Can. J. For. Res.* 35: 199-205.
- MEYER, H.J. & NORRIS, D.M.; 1974. Lignin intermediates and simple phenolics as feeding stimulants for *Scolytus multistriatus*. *J. Insect Physiol.* 20: 2015-2021.
- PAJARES, J. A.; GARCÍA, S.; DÍEZ, J. J.; MARTÍN, D. & GARCÍA VALLEJO M.C.; 2004. Feeding responses by *Scolytus scolytus* to twig bark extracts from elms. *Invest. Agrar.: Sist. Recur. For.* 13:217-226.
- SANTAMOUR, F.S.; 1972. Flavonoid distribution in *Ulmus*. *Bull. Torrey Bot. Club*, 99:127-131.
- WEBBER, J.F.; 2000. Insect vector behaviour and the evolution of Dutch elm disease. In: C.P. Dunn (ed.), *The elms: breeding, conservation and disease management*: 47-60. Kluwer Academic Publishers. Boston.

Tabla 1. Muestras estudiadas			
Muestra	Código europeo	Muestra	Código europeo
<i>U. glabra</i>		<i>U. minor</i>	
AV-CA2	3863	MA-PD2	UPM130
C-EU1	nd	CS-CL2	UPM050
		TO-PB1	UPM171
<i>U. laevis</i>		<i>U. pumila</i>	
M-SL1	3871	CA-AL1	201
LE-BL1	UPM075		

nd = no disponible

Tabla 2. Datos espectrales de los compuestos identificados			
Compuesto	Espectroscopía UV	Espectrometría de masas	
	λ_{max} (nm)	[M-H] ⁻ (m/z)	Fragmento (m/z)
Ácido protocatéquico *	255/294	153.0	---
Catequina-hexosa	278.8	451.1	289.0
Aldehído protocatéquico *	279/310	137.0	---
Procianidina dímero B ₃ *	278.8	577.1	289.0
Procianidina dímero B ₁ *	278.8	577.1	289.0
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico*	255.2	136.9	---
Catequina-pentosa	278.8	421.1	289.0
(+)-Catequina*	278.8	289.0	---
Ácido vainillínico *	261/293	167.1	---
Esculetina*	298/341	176.9	---
Ácido cafeico *	322.7	179.1	---
Procianidina dímero pentosa	278.8	709.2	577.1
Procianidina trímero	278.8	865.0	289.0
Procianidina dímero B ₂ *	278.8	577.1	289.0
Ácido siríngico*	274.6	197.1	---
<i>p</i> -Vainillina*	280/310	169.1	---
Epicatequina pentosa	278.8	421.1	289.0
Prodelfinidina	276.9	---	---
(-)- Epicatequina*	278.8	289.0	---
Ácido <i>trans-p</i> -cumárico*	309.6	162.9	---
Rutina*	256/354	609.1	---
Escopoletina*	297/344	191.1	---
Procianidina dímero	278.8	577.1	289.0
Procianidina trímero	278.8	865.0	289.0
Procianidina trímero	278.8	865.0	289.0
Prodelfinidina	276.9	---	---
Prodelfinidina	276.9	---	---
Ácido <i>cis</i> -cinámico*	279	147.2	---

*.- Se dispuso de patrón comercial

Tabla 3. Composición Polifenólica de los extractos metanólicos liofilizados (µg/mL)								
Compuesto	<i>Ulmus glabra</i>		<i>Ulmus laevis</i>		<i>Ulmus minor</i>			<i>U. pumila</i>
	AV-CA2	C-EU1	LE-BL1	M-SL1	CS-CL2	MA-PD2	TO-PB1	CA-AL1
Ácido protocatéquico	21.04	4.79	8.43	9.27	5.48	5.41	7.17	2.90
(+)-Catequina-hexosa	----	----	299.09	90.58	65.50	8.60	49.50	----
Procianidina dímero B ₃	----	----	166.50	60.59	16.61	13.79	18.26	11.33
Procianidina dímero B ₁	29.09	9.25	----	----	112.44	120.44	92.77	32.49
(+)-Catequina-pentosa	17.77	53.59	234.79	320.05	249.03	139.82	172.03	138.56
(+)-Catequina	102.01	59.84	165.99	263.65	308.79	250.00	351.37	121.01
Procianidina dímero-pentosa	----	----	5.49	5.49	297.81	315.10	466.30	460.50
Procianidina trímero	----	26.04	6.76	10.27	----	----	----	12.29
Procianidina dímero B ₂	390.42	281.14	----	----	----	----	----	----
(-)-Epicatequina-pentosa	4.28	29.08	----	----	----	----	----	3.92
Prodelfinidina	----	----	13.70	9.38	----	----	----	----
(-)-Epicatequina	41.01	101.63	5.61	4.50	18.04	20.26	17.66	3.10
Rutina	----	----	----	----	3.44	1.67	3.15	----
Procianidina dímero	----	----	12.73	18.06	----	----	----	----
Procianidina trímero	6.32	10.00	----	----	----	----	----	----
Procianidina trímero	51.46	4.41	----	----	----	----	----	----
Prodelfinidina	----	----	13.78	9.04	----	----	----	----
Prodelfinidina	----	----	4.10	2.21	----	----	----	----
Suma de procianidinas	477.29	330.84	191.48	94.41	426.86	449.33	577.33	516.61
Catequina+glicósidos	119.78	113.43	699.87	674.28	623.32	398.42	572.90	259.57
Epicatequina+glicósidos	45.29	130.71	5.61	4.50	18.04	20.26	17.66	7.02
Suma de prodelfinidinas	----	----	31.58	20.63	----	----	----	----

--- no detectado

Tabla 4. Polifenoles de bajo peso molecular en las fracciones solubles en éter etílico/éter de petróleo de los extractos metanólicos liofilizados (µg/mL)							
Compuesto	<i>Ulmus glabra</i>		<i>Ulmus laevis</i>		<i>Ulmus minor</i>		
	AV-CA2	C-EU1	LE-BL1	M-SL1	CS-CL2	MA-PD2	TO-PB1
Ácido protocatéquico	8.89	2.75	18.80	16.02	---	1.64	---
Aldehído protocatéquico	3.63	2.90	5.44	6.67	6.67	2.31	2.30
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	0.49	---	---	0.68	---	0.68	---
Ácido vainillínico	4.01	3.23	5.52	15.59	---	---	---
Esculetina	---	1.62	---	---	---	---	---
Ácido cafeico	2.89	17.38	18.05	23.59	1.02	---	9.52
Ácido siríngico	1.86	0.60	1.23	2.48	---	---	---
<i>p</i> -Vainillina	2.83	2.61	3.74	4.82	---	---	0.51
Ácido <i>trans</i> - <i>p</i> -cumárico	2.13	1.29	2.68	2.97	---	0.81	0.71
Escopoletina	1.80	---	5.91	9.75	---	---	---
Ácido <i>cis</i> -cinámico	7.68	4.26	2.45	2.77	---	---	---
Suma de ácidos fenólicos	27.95	29.51	48.73	64.10	1.02	3.13	10.23

--- no detectado

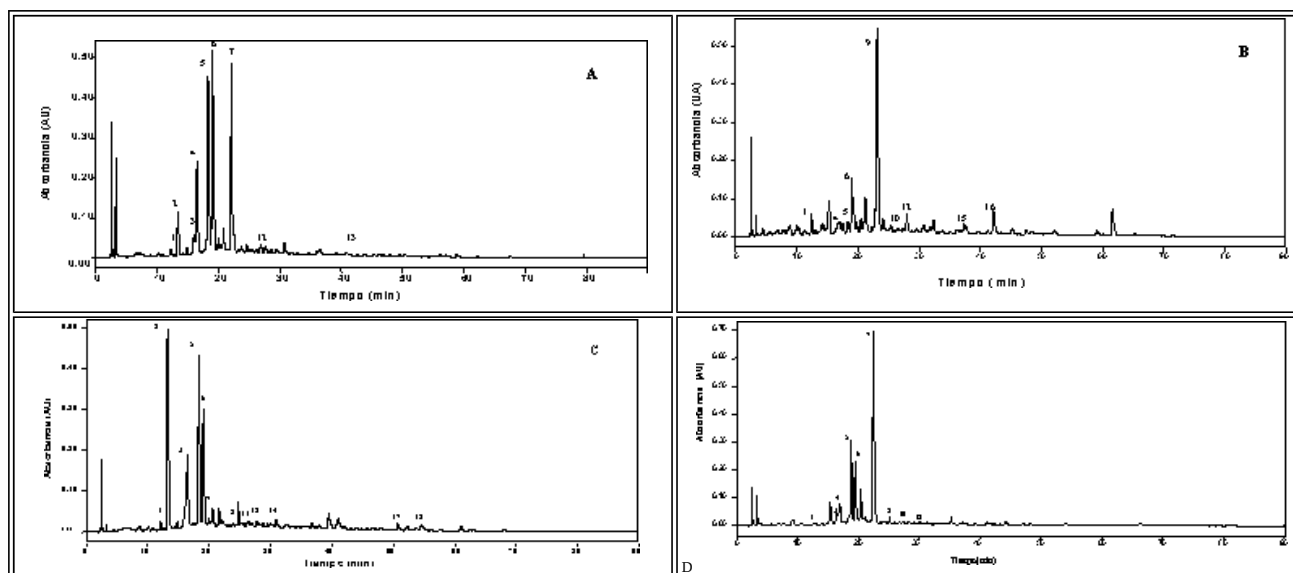


Fig. 1. Cromatogramas HPLC de extractos metanólicos de cortezas de ramas de 2-4 años de: A) *Ulmus minor*, B) *U. glabra*, C) *U. laevis*, D) *U. pumila*. 1. ác. protocatéquico, 2.(+) catequina-hexosa, 3. PC dímero B₃, 4. PC dímero B₁, 5. (+) catequina-pentosa, 6. (+)-catequina, 7. PC dímero-pentosa, 8. PC-trímero, 9. PC dímero B₂, 10. (-) epicatequina-pentosa, 11. prodelfinidina, 12 (-)-epicatequina, 13. rutina, 14. PC dímero, 15. PC trímero, 16. PC trímero, 17. prodelfinidina, 18. prodelfinidina (ác. = ácido, PC = procianidina)