

ACTIVIDAD TÓXICA Y MOLUSQUICIDA DE ALGUNOS EXTRACTOS VEGETALES

Antonia Herrera*; Andreína Figuera** y Oscar Crescente***.

RESUMEN

La toxicidad de los extractos de frutos y/o semillas de *Annona squamosa*, *Mammea americana* y *Ricinus communis*, obtenidos con diferentes solventes, fue determinada frente a *Poecilia reticulata* y nauplios de *A. salina*. Asimismo, se determinó el efecto molusquicida de los extractos en los caracoles dulceacuícolas: *Marisa cornuarietis* y *Pomacea glauca*, hospederos intermedios de estadios larvales parasitarios. Las pruebas realizadas según las normas de la O.M.S., la metodología de Meyer *et al.* (1982) y el programa estadístico para computadoras propuesto por Stephan (1977) permitieron obtener entre los valores de concentración letal media más activos 0,00262 ppm para toxicidad y 124,7 ppm para actividad molusquicida con *A. squamosa*. Los resultados muestran que el extracto hexánico de *A. squamosa* arrojó los valores más tóxicos para las pruebas contra *A. salina* y junto a *M. americana* contra *P. reticulata* y los gastrópodos estudiados. Se concluye que los extractos obtenidos de las plantas en estudio poseen una alta actividad tóxica y molusquicida sobre los organismos de prueba.

PALABRAS CLAVES: Molusquicida, Toxicidad, Productos Naturales, *Mammea americana*, *Annona squamosa*, *Ricinus communis*.

ABSTRACT

The toxicity of fruit and/or seed extracts of *Annona squamosa*, *Mammea americana* and *Ricinus communis*, obtained with different solvents, was determined on

Poecilia reticulata and *A. salina* nauplii. Likewise, the molluscicidal effect of the extracts was determined in the freshwater snails *Marisa cornuarietis* and *Pomacea glauca*, intermediary host of parasite larvae stages. The tests, performed according to W.H.O. norms, using the method of Meyer *et al.* (1982), methodology and of the computer statistical program proposed by Stephan (1977), allowed us to obtain, among the most active average lethal concentration values, 0.00262 ppm for toxicity and 124.7 ppm for molluscicidal activity with *A. squamosa*. The results show that the most toxic values in the tests are obtained with hexanic extracts of *A. squamosa* against *A. salina*, and of *M. americana* against *P. reticulata* and the gastropods. We conclude that the extracts obtained from the plants in the study possess a high toxic and molluscicidal activity on the test organisms.

KEY WORDS: Molluscicidal, Toxicity, Natural Products, *Mammea americana*, *Annona squamosa*, *Ricinus communis*.

INTRODUCCIÓN

Descubrir nuevos agentes terapéuticos a partir de precursores químicos vegetales, ha resultado un área importante para el desarrollo de la farmacología, estimulada por los antecedentes de ciertas plantas con propiedades curativas y que han sido empleadas durante muchos años en la medicina folklórica (Aguilera 1989). Estos descubrimientos se han llevado a cabo en gran medida a través de la realización de bioensayos, los cuales en las últimas décadas han empleado algunas especies animales de pequeño tamaño, especialmente acuáticas, por su fácil manejo y reproducción en laboratorio, su gran capacidad de área y rápida respuesta a las condiciones experimentales. Tales son los casos del pez *Poecilia reticulata* Peters, 1859 (n.v.: guppys) y el crustáceo *Artemia salina* Leach, 1812, ésta última ha sido la especie más utilizada como indicadora de toxicidad en pesticidas residuales, anestésicos, micotóxicas, etc. (Meyer *et al.* 1982; Persoone y Castritse 1989; Jung *et al.* 1990; Lable *et al.* 1991).

*Postgrado en Biología Aplicada, **Dpto. Biología y ***Dpto. Química, Escuela de Ciencias, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente.

Recibido: Enero 1999. Aprobado: Octubre 1999.

Aquellos agentes que se emplean para controlar ciclos vitales de parásitos también son de suma importancia y requieren de amplios estudios de índole químico; los gastrópodos *Marisa cornuarietis* y *Pomacea glauca*, conocidos comúnmente como cuibas; son hospederos intermediarios de parásitos de animales domésticos y/o silvestres y se emplean como organismos de prueba en bioensayos conducentes a descubrir molusquicidas naturales que podrían representar una vía propicia para controlar o erradicar enfermedades parasitarias, cuyo manejo con productos químicos sintéticos genera grandes inversiones de dinero y graves efectos colaterales.

Cuando se escoge una planta para su estudio en el ámbito farmacológico se hace, entre otros aspectos, apoyándose en los conocimientos populares que se tiene de ella; entre éstas tenemos, como bien señala Hoyos (1989), a *Annona squamosa* L. (Annonaceae) (n.v.: chirimoya), la cual es utilizada para el tratamiento de la diarrea, la disentería, las afecciones uterinas, cutáneas y como insecticida; *Mammea americana* L. (Clusiaceae) (n.v.: mamey) que es usada como insecticida, acaricida, contra piojos y garrapatas de animales domésticos y, según Cabeza (1981), el *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae) (n.v.: ricino) que muestra un amplio rango de usos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Las plantas *A. squamosa*, *M. americana* y *R. communis* fueron colectadas en las localidades de Chiguana, Carúpano y Casanay, respectivamente, del estado Sucre, Venezuela. Éstas se identificaron en el Herbario Isidro Ramón Bermúdez Romero del Departamento de Biología de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre.

Obtención de los extractos

Los frutos con semillas de *R. communis* (al estar completamente secos) y las semillas de *M. americana* fueron molidas en una licuadora y las de *A. squamosa* en un molino doméstico. A partir de las diferentes harinas vegetales, se realizó la extracción con hexano en Soxhlet y luego con etanol y metanol; los extractos obtenidos fueron rotaevaporados, para eliminar el solvente, y diluidos en dimetilsulfóxido-agua destilada (1:1) y etanol o metanol-agua destilada (1:1) para obtener una solución patrón de 10.000 ppm.

Pruebas de Toxicidad con:

1.- *Artemia salina*: se colocaron 10 nauplios de los organismos recién eclosionados (a partir de quistes comerciales) en viales que contenían 4,5 ml de agua de mar filtrada, a los cuales se le añadieron 0,5 ml de la solución patrón del extracto, empleándose diluciones seriadas. El bioensayo fue realizado con 4 réplicas y un control; la mortalidad se registró a las 24 horas de exposición (Meyer *et al.* 1982). La concentración letal media (CL₅₀) se determinó según el método de Stephan (1977).

2.- *Poecilia reticulata*: los organismos colectados en canales de agua ubicados en los alrededores de Cumaná, estado Sucre, Venezuela, e identificados según la clave de Günther (1973), fueron distribuidos en acuarios con agua de chorro desclorificada y se les proporcionó aireación con una bomba eléctrica y luz artificial durante 10 horas continuas. Se alimentaron con Ictiosan diariamente durante la etapa de aclimatación.

El bioensayo se realizó por duplicado, empleándose diferentes concentraciones de los extractos objeto de estudio. Se colocaron 10 peces (3-4 cm de longitud) en frascos de vidrio con 250 ml de agua de chorro desclorificada. La mortalidad se registró a las 24 horas de exposición y los datos obtenidos se analizaron para determinar la CL₅₀ por el método Probit, según Stephan (1977).

Prueba molusquicida

Los caracoles *Marisa cornuarietis* y *Pomacea glauca* fueron colectados en canales de agua situados en los alrededores de Cumaná, estado Sucre, Venezuela, e identificados en el Instituto de Zoología Tropical de la Universidad Central de Venezuela. Estos organismos se colocaron en acuarios que contenían agua de chorro desclorificada, a temperatura ambiente, se expusieron a 8 horas de luz artificial y aireación continua diariamente; los organismos se alimentaron con *Scindapsus aureus* (n.v.: malanga).

El bioensayo para cada especie se realizó por duplicado y se basó en el uso de una batería de soluciones con diferentes concentraciones de los extractos empleados. Fueron colocados 10 caracoles en frascos de vidrio con 250 ml de agua de chorro desclorificada a los cuales se les añadieron los distintos volúmenes del extracto. A las 24 horas de exposición se registró la mortalidad (WHO, 1965). Los datos fueron analizados estadísticamente mediante el método Probit, según Stephan (1977).

Tabla 1. Actividad Tóxica de Extractos de *Annona squamosa*, *Mammea americana* y *Ricinus communis*.

Planta	Extracto	Organismo	CL ₅₀ (ppm)	Límites de confianza (ppm)
<i>A. squamosa</i>	Hexánico		0,0026	(0-13,79)
<i>M. americana</i>	Metanólico		270,96	(238,42-304,31)
<i>R. communis</i>	Hexánico	<i>A. salina</i>	655,76	(406,35-1266,43)
<i>R. communis</i>	Etanólico		430,74	(266,12-781,24)
<i>A. squamosa</i>	Hexánico		0,80	(0-4,08)
<i>M. americana</i>	Hexánico	<i>P. reticulata</i>	<10,00	<10,00
<i>M. americana</i>	Metanólico		67,83	(9,76-312,11)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra las concentraciones letales medias correspondientes a la prueba de toxicidad de los extractos vegetales de las plantas en estudio frente a *A. salina*. Se observa que el extracto hexánico de las semillas de *A. squamosa* mostró un valor de CL₅₀ igual a 0,00262 ppm, el cual se encuentra por debajo del rango de 30 ppm señalado por Meyer *et al.* (1982) para los extractos o compuestos con posible actividad contra células cancerígenas; mientras que los extractos hexánicos y etanólicos de *R. communis* y el extracto metanólico de *M. americana* produjeron mayor toxicidad a muy altas concentraciones. Cabe mencionar que dosis similares a la determinada en esta investigación, fueron señaladas por Li *et al.* (1990); quienes lograron dilucidar los compuestos: squamona y tetrahidrosquamona a partir de la corteza de *A. squamosa*, los cuales provocaron una CL₅₀ en *A. salina* de 2,1 y 2,7 ppm, respectivamente; los extractos etanólicos de *A. squamosa* y hexánico de *M. americana* resultaron inocuos al crustáceo de prueba.

El bioensayo de toxicidad de los extractos hexánicos de *A. squamosa* y *M. americana* causaron mayor actividad tóxica que el extracto metanólico de esta última planta, ya que las CL₅₀ para ambos extractos en hexano, fueron menores de 10 ppm (Tabla 2). Los extractos hexánico y etanólico de *R. communis* y etanólico de *A. squamosa* no resultaron tóxicos frente *P. reticulata*.

La actividad molusquicida de los extractos vegetales objeto de estudio (Tabla 2) evidencia que todos los extractos superan el valor (100 ppm) aceptado por la OMS y aun cuando se visualiza mortalidad del 50% a concentraciones mayores de 100 ppm para estos extractos, puede recomendarse la realización de separaciones cromatográficas de los posibles compuestos presentes en los extractos, en aras de mejorar los resultados obtenidos. Claramente se observa que los extractos más activos fueron el hexánico de *A. squamosa* y metanólico de *M. americana*. Actualmente con las especies vegetales en estudio no se han realizado estas pruebas; sin embargo, se han llevado a cabo frente a estos gastrópodos con otras plantas, evidenciándose que los extractos hexánicos resultan ser los más activos.

Tabla 2. Actividad Molusquicida de Extractos de *Annona squamosa* y *Mammea americana*.

Planta	Extracto	Organismo	CL ₅₀ (ppm)	Límites de confianza (ppm)
<i>A. squamosa</i>	Hexánico	<i>M. cornuarietis</i>	188,83	(86,13-∞)
<i>A. squamosa</i>	Etanólico		328,61	(114,29-∞)
<i>M. americana</i>	Metanólico		108,44	(52,72-1970,80)
<i>A. squamosa</i>	Hexánico		124,70	(70,95-662,82)
<i>A. squamosa</i>	Etanólico	<i>P. glauca</i>	973,25	(233,30-∞)
<i>M. americana</i>	Metanólico		148,10	(108,89-294,58)

CONCLUSIONES

El extracto hexánico de *A. squamosa* resultó activo en la prueba de toxicidad frente a *A. salina* y la concentración letal media se ajusta al rango establecido para este tipo de ensayo.

Los extractos hexánicos de *A. squamosa* y *M. americana* produjeron la mayor actividad tóxica frente a *P. reticulata*. Para dichos casos las CL_{50} fueron menores de 10 ppm.

Se evidencia actividad molusquicida de los extractos hexánicos, etanólicos y metanólicos de *A. squamosa* y *M. americana* frente a *M. cornuarietis* y *P. glauca*.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre y al CONICIT, a través de los proyectos de investigación: CI-023-004-59/91-92 y SI-2202, respectivamente, a cargo del Dr. Oscar Crescente; al Herbario IRBR y a su Curador Prof. Luis Cumana; al IZT-UCV en la persona del Prof. Rafael Martínez; y al Prof. Oscar Chinchilla del Laboratorio de Parasitología de la UDO-NS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILERA, N. 1989. Aislamiento y caracterización de la naturaleza química de compuestos con actividad antibiótica y/o fototóxica en algunos géneros de las familias Asteraceae y Acanthaceae. Trabajo de Grado. Lic. Biología. UDO-Sucre. 82 pp.

CABEZA, P. 1981. Angiospermas con atributos medicinales en el estado Sucre. Trabajo de Grado. Lic. Educación, mención Biología. UDO-Sucre.

GÜTHER, S. 1973. Freshwater Fishes of the World. T.F.H. Publications, Inc. 2:457-877.

HOYOS, F. 1989. Frutales de Venezuela. Sociedad de Ciencias Naturales La Salle. Caracas, Venezuela. 375 pp.

JUNG, J., PUMMANGURA, S., CHAICHANTIPYUTH, C., PATARAPANICH, C. and McLAUGHLIN, J. 1990. Bioactive constituents of *Milodorum fruticosum*. Phytochem. 29(5):1667-1670.

LABLE, C., CASTILLO, J. and HERNÁNDEZ, M. 1991. Diterpenoids from *Baccharis leija*. Phytochem. 30(5):1607-1611.

LI, X., KEI, Y., RUPPRECHT, J., LIU, Y., WOOD, K., SMITH, D., CHANG, C. and McLAUGHLIN, J. 1990. Bullatacin, Bullacinone and Squamone, a new bioactive acetogenin, from the bark of *Annona squamosa*. J. Nat. Prod. 53(1):81-86.

MEYER, B., FERRIGNI, N., PUTNAM, J., JACOBSEN, J., NICHOLS, D. and McLAUGHLIN, J. 1982. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. J. Med. Plant Res. 45:31-34.

PERSOONE, G. and CASTRITSI, J. 1989. A simple bioassay with *Artemia* larvae to determine the acute toxicity of antifouling paints. Watt. Ris. 23(7):893-897.

STEPHAN, C. 1977. Methods for calculating in LC_{50} . En F. L. Meyer and J. L. Hamelinn (Eds): American Society for Testing and Materials (ASTM) aquatic toxicology and hazard evaluation. Philadelphia, Pennsylvania: pp. 65-84.

W.H.O. 1965. Molluscicide screening and evaluation. Memoranda. Bull. World Health Org. 33:567-568.