

MOLUSQUICIDAS NATURALES DE ORIGEN BOTÁNICO.

Margarita Alfonso Hernández, Rubén Avilés Pacheco, María Elena Alvarez Valdés, Yannín Lorenzo Rodríguez, María de los Angeles Zayas Vázquez, Viviana Rodríguez Ruiz, Yamilet Rodríguez Díaz, Raúl Villasana Balaguer y Domingo Pérez Ravelo.

**Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT)
Calle 2 esq. 1 Santiago de las Vegas, Ciudad de La Habana, Cuba, CP 17200.
E-mail: malfonso@inifat.co.cu**

RESUMEN

Entre las plagas que afectan las unidades productivas de la Agricultura Urbana los moluscos ocasionan pérdidas en la calidad y los rendimientos, principalmente en las hortalizas de hoja. Teniendo en cuenta que la flora es un recurso que podemos explotar desde el punto de vista de la protección fitosanitaria de los cultivos, en la presente investigación se hizo una revisión bibliográfica de 32 plantas nativas o introducidas en Cuba que reportan propiedades molusquicidas. Se desarrolló una metodología a nivel de laboratorio con dos especies comunes de moluscos que permite detectar este tipo de actividad biológica en los extractos de las plantas seleccionadas, y debido a su buena efectividad, se escogió el güirito espinoso (*Solanum globiferum* Dun.) como modelo representativo de un molusquicida natural. Se definió la tecnología de siembra, plantación, cosecha y procesamiento de los frutos, la utilización de extractos acuosos para el control de las babosas, las técnicas analíticas para la determinación del principio activo solasodina y las investigaciones toxicológicas que aseguran su inocuidad para el usuario, así como su compatibilidad con algunos medios biológicos. Con estos resultados se obtuvo el Registro de Marca SOLASOL para este preparado botánico y se continúa el trabajo de capacitación con los productores para extender su uso.

Palabras claves: molusquicidas naturales, organopónicos.

CONTRIBUTION OF THE AGREEMENT DE COLABORACIÓN CIENTÍFICA GERMAN DEMOCRATIC VAT-REPUBLIC IN THE INIFAT TO THE FITOSANIDAD IN VAT.

When December 9 1965 are developed in the today Institute of Fundamental Investigations in Tropical Agriculture "Alejandro of Humboldt" the Scientific Collaboration between the Republic of Cuba and the German Democratic Republic, a productive work stage begins among the specialists of both countries. Numerous investigations are developed, and you continue the tradition of the institution in the field of the Fitosanidad, with the study of the plagues, illnesses and overgrowths that affect the main cultivations and their control; the employment of chemical plaguicidas, the stability in the storage and their application in connection with the contamination of the environment. In the 25 years of Collaboration until the disappearance of the RDA, they were rehearsed more than 800 formulated in some 4 500 field tests, being created in the investigators and Cuban technicians a work discipline and an integral conception of the scientific

investigation. Presently work is exposed the main reached results, and its contribution to the future acting of the INIFAT.

Key words: Fitosanidad, Agreement Cuba-RDA, INIFAT.

INTRODUCCIÓN

Después de la Segunda Guerra Mundial el descubrimiento y desarrollo de los plaguicidas químicos sintéticos permitió el aumento de los rendimientos y la calidad de las cosechas, pero su uso continuado e inadecuado ha generado la aparición de resistencia en las plagas, acumulación de residuos tóxicos en los agroecosistemas, y daños a la salud humana y la fauna benéfica, provocando desequilibrios ecológicos.

Las plantas, como producto final de su metabolismo secundario obtienen sustancias que no son ni esenciales ni de presencia universal para todas las especies vegetales, entre sus funciones se encuentran las relacionadas con los mecanismos de defensa o protección, y actúan como biocidas, repelentes y/o inhibidores de la alimentación para patógenos, herbívoros y competidores, de manera que puedan garantizar su sobrevivencia.

Los productos naturales a base de plantas respetan el principio básico de la Agroecología de no perturbar los equilibrios naturales con intervenciones que afecten su estabilidad. Los plaguicidas botánicos se integran fácilmente a los programas de Manejo Ecológico de los sistemas de producción debido a la facilidad de su obtención, su bajo poder residual, la no generación de resistencia y su influencia limitada hacia la fauna benéfica, lo que permite disminuir la dependencia de los insumos importados.

Las investigaciones para el desarrollo de plaguicidas naturales de origen botánico y la generación de tecnologías para su uso sólo puede lograrse mediante la existencia de grupos multidisciplinarios formados por botánicos, químicos, bioquímicos, agrónomos y biólogos, y de programas y proyectos nacionales y ramales que orienten técnica y científicamente el aprovechamiento de estas especies. Paralelamente se debe capacitar a los productores para mostrar las ventajas de esta alternativa ecológica y su viabilidad económica. Estas investigaciones incluyen varias etapas que se resumen a continuación:

- Elección del material vegetal y de la parte de la planta a estudiar.
- Recolección del material vegetal y preparación del mismo: identificación botánica, notas de campo, secado y almacenamiento.
- Tamizaje fitoquímico.
- Extracción del material vegetal.
- Fraccionamiento y formulación.
- Pruebas biológicas de actividad.
- Aislamiento y purificación de principios activos.
- Elucidación estructural y caracterización de los compuestos.
- Pruebas biológicas a mayor escala.
- Toxicología, ecotoxicología y residualidad.

- Producción, control de calidad, envasado y almacenaje
- Registro.
- Industrialización, comercialización y mercadotecnia.

Entre las plagas que afectan las distintas modalidades productivas de la Agricultura Urbana, organopónicos, huertos intensivos, parcelas, autoconsumos, etc, los moluscos producen daños y defoliaciones especialmente en las hortalizas de hoja, afectando la calidad y los rendimientos (Companioni y col.,1997). Existen varios métodos para combatir los moluscos, entre los cuales podemos citar el polvoreo del suelo con cal apagada, atomizar las plantas con sulfato de cobre o utilizar cebos que contienen metaldehído, carbaryl o thiodan. Todos estos tratamientos químicos son más o menos contaminantes del sustrato y los cultivos, unido al alto costo de los productos; por otra parte, los medios mecánicos como colocar paños húmedos son poco efectivos y conllevan un gran gasto de tiempo.

Por estas razones, el objetivo de nuestra investigación fue indagar sobre el potencial que poseen algunas plantas para combatir estos molestos gasterópodos, y desarrollar un molusquicida botánico cuyo empleo sea factible en la Agricultura Urbana.

MÉTODOS UTILIZADOS

Revisión bibliográfica e investigaciones preliminares con algunas plantas.

Se realizó una revisión bibliográfica sobre plantas molusquicidas que se encuentran en Cuba nativas o introducidas, muchas de ellas son muy abundantes y accesibles como ornamentales, silvestres o medicinales. Se clasificaron por familia, especie, nombre común, moluscos probados y metabolitos secundarios reportados. Paralelamente, se trabajó en ensayos de laboratorio para corroborar la actividad molusquicida de las siguientes plantas: *Solanum globiferum* (güirito espinoso), *Solanum mammosum* (güirito de pasión), *Nerium oleander* (adelfa), *Jatropha curcas* (piñón botija), *Melia azedarach* (paraíso), *Azadirachta indica* (nim) y *Canna edulis* (achira). El material vegetal se colectó en áreas del INIFAT, durante los años 1995 – 1996, utilizándose seco o fresco según el caso, después de determinar el porcentaje de humedad.

Los frutos verdes y pintones de *S. globiferum* y *S. mammosum* se trocearon y secaron dos días al sol y después en estufa a 50 °C, se molinaron hasta un tamaño de partícula menor de 2 mm y el polvo se maceró en alcohol etílico por 48 h, se filtró por papel de filtro y se eliminó el solvente en el evaporador rotatorio de vacío, quedando un residuo denso que se resuspendió en una solución hidroalcohólica al 10%, a las concentraciones de 12.5 y 25% del extracto respectivamente. Con *S. globiferum* se prepararon además, extractos acuosos pesando directamente el polvo y añadiendo agua destilada en una relación peso/volumen de 10 y 5%, se maceró 12 horas solamente para evitar posibles fermentaciones y se filtró.

Las hojas de *N. oleander* se dividieron en dos partes y una se secó en estufa a 40 °C y se molinó, y la otra se utilizó fresca, cortando las hojas con tijera. El polvo seco se maceró en alcohol por 48 horas y se siguió el mismo procedimiento anterior, solo que las concentraciones finales de extracto fueron de 50 y 25%, y los extractos acuoso se prepararon en una relación peso/volumen de 25 y 12.5% de las hojas troceadas. De *C. edulis* se usó el rizoma fresco troceado a la concentración de 25 %, que se maceró en agua por 16 horas, y las hojas se secaron en estufa a 40 °C y se molinaron, macerándose el polvo en alcohol a la concentración de 25% por 48 horas.

Los frutos maduros de *A. indica* se sumergieron en agua por 24 horas, se despulparon manualmente y las semillas se secaron al aire y en sombra dos días y después en estufa 40 °C. Los frutos maduros de *M. azedarach* se secaron al aire igualmente por 2 días y en estufa a 40 °C, y las semillas de *J. curcas* se obtuvieron después de secos los frutos y se procesaron de la misma forma. Todos los materiales secos se molinaron y se sometieron a un proceso de extracción continua con éter de petróleo en un equipo sohxlet por 16 horas, posteriormente se eliminó el solvente en el evaporador rotatorio de vacío, quedando el aceite como residuo. Con estos aceites se prepararon formulaciones emulsionadas en agua a la concentración de 1% para paraíso y nim y al 50% para el piñón botija, solo que con esta última planta después de obtenido el aceite, la torta resultante se extrajo con alcohol por 16 horas, se evaporó el solvente, y el residuo se resuspendió en una solución hidroalcohólica al 10% en las concentraciones de 50 y 25%.

Para determinar el efecto molusquicida se desarrolló una metodología de trabajo, escogiéndose dos especies de moluscos, *Praticolella griseola* y *Succinia sagra*, que se encuentran infestando los organopónicos. Los experimentos se montaron en placas hondas de cristal tapadas con una malla metálica en cuyo interior fue colocado un pote plástico con papel de filtro humedecido en el fondo con 25 moluscos por réplica, y teniendo como alimento ramas de berro, diariamente se humedecía el papel de filtro para mantener la ambientación. Posteriormente se aplicaron los extractos con un asperjador, utilizándose un testigo con agua o solución hidroalcohólica según el caso; cada tratamiento se replicó tres veces. Las observaciones se realizaron a las 24 y 48 horas de la aplicación para evaluar porcentaje de mortalidad.

RESULTADOS

Se presentan 32 especies de plantas pertenecientes a 30 géneros y 19 familias reportadas con actividad molusquicida (Tabla 1) que se encuentran en Cuba nativas o introducidas. Las familias con mayor número de especies fueron *Apocynaceae*, *Fabaceae*, *Mimosaceae* y *Solanaceae*. De las 23 especies en que se reporta la naturaleza de los metabolitos secundarios, podemos ver que la mayoría corresponde a alcaloides y saponinas, además de lactonas, triterpenos y glicósidos cardíacos. Todos estos compuestos están muy relacionados por su biosíntesis, pues proceden de un tronco común que es el escualeno. En las plantas, estos compuestos están en forma de glicósidos, que por su naturaleza polar penetran fácilmente las membranas celulares. Las saponinas y glicósidos de los alcaloides esteroidales ejercen un efecto irritante directo sobre las mucosas, y en los animales de sangre caliente, tras su absorción hasta la corriente sanguínea, producen hemólisis de los glóbulos rojos. Por otra parte,

Piña y col. (1996), demostraron que en mayor cuantía *S. saponaria*, y además *M. azedarach* y *M. charantia* disminuían la frecuencia cardíaca de *Fossaria cubensis*.

Esto nos indica que la acción tóxica de estas plantas la ejerce un grupo de compuestos bien definidos estructuralmente, que se encuentran preferentemente en forma de glicósidos. Esta coincidencia amplía las posibilidades en la búsqueda de molusquicidas botánicos, pues conociendo los metabolitos secundarios de plantas adecuadas a tal fin, se puede predecir una acción contra moluscos, lo cual debe corroborarse con las pruebas biológicas de laboratorio. Por esta razón se trabajó con la especie comestible *C. edulis*, no reportada en la literatura disponible.

Los resultados obtenidos en las pruebas biológicas con los diferentes extractos de las plantas se observan en la Tabla 2. Los valores más bajos de mortalidad corresponden a *N. oleander*, de sólo 10% para el extracto acuoso al 25%, a pesar de que Coto y Saunders (1985) reportaron buena efectividad por repelencia del extracto acuoso de hojas de adelfa sobre *Diplosolenodes occidentale* en el cultivo del frijol.

Maini y Morallo Rejesús (1993), investigaron extractos crudos de hojas, semillas, aceite y aceite formulado de nim contra la babosa dorada del arroz, donde el aceite formulado resultó el más tóxico por efecto antialimentario a la concentración de 200 ppm, lo cual ratifica nuestros resultados con esta planta y también con respecto a la otra meliácea, el paraíso, aunque es necesario continuar trabajando con un rango mayor de dosis y mejorar los formulados oleosos.

Como puede observarse en la Tabla 2, los extractos alcohólicos de *J. curcas* fueron más efectivos que el aceite, mientras que los extractos acuosos de los rizomas frescos de *C. edulis* tuvieron una efectividad del 60%, y constituyen el primer reporte sobre el uso de esta planta como molusquicida.

De todas las especies estudiadas, *S. mammosum* y *S. globiferum* fueron las más efectivas al producir una mortalidad de más del 80% en ambas especies de moluscos, con la ventaja de que los principios activos son solubles en agua y resulta sencilla su aplicación; de estas dos plantas, *S. globiferum* rinde mayor cantidad de frutos y tiene menor porte, por lo que se decidió escogerla para el desarrollo de un molusquicida natural.

DESARROLLO DE UN MOLUSQUICIDA NATURAL A BASE DE LOS FRUTOS DE LA PLANTA SOLANUM GLOBIFERUM.

SOLANUM GLOBIFERUM DUN. (güirito espinoso)

Familia: Solanaceae.

Descripción botánica: Arbusto de 0.5-0.8 m de altura. Tallos densamente pubescentes, con pelos simples y glandulosos, armados con espinas rectas y delgadas. Hojas alternas, pecioladas, pelosas en el haz y el envés. Flores blancas, corola de 5 lóbulos. Fruto en baya globosa, de color verde y a rayas blancas, de color amarillo cuando maduro. Semillas lenticulares, numerosas, brillantes.

Metabolitos secundarios: Estas plantas se caracterizan por su contenido en alcaloides esteroidales en forma de glicósidos, como la solamargina y la solasonina, cuya aglicona común es la solasodina, usada como precursor para la síntesis de hormonas esteroides en la industria farmacéutica. La acción de estos glicósidos es parecida a las saponinas, ejercen un efecto irritante directo sobre la mucosa del tubo digestivo y tras su absorción hasta la corriente sanguínea producen hemólisis de los glóbulos rojos, en dosis grandes paralización cardíaca. Los frutos se usan como barbasco, y se le atribuyen propiedades tóxicas para el ganado.

Cultivo de la planta y recolección. Para el cultivo de *S. globiferum* se prepara un semillero en los meses de marzo – abril. La desinfección se hace con formol 30-40% a razón de 1.5 L/m. El semillero se hace en área sombreada o se tapa con polietileno. El riego será diario y ligero. Puede haber ataques de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium* sp., por lo que se aplicarán soluciones de fungicidas biológicos si es necesario. Al mes se procede al trasplante, y la distancia entre plantas puede ser de 0.9 a 1.5 m. El riego se hace dos veces por semana.

Las plantas fructifican a los 6 – 7 meses, alcanzando la máxima producción en el mes de noviembre. Los frutos se cosechan verdes o pintones porque en éstos es mayor el contenido de glicoalcaloides que en los maduros cuando alcanzan un color amarillo intenso (Telek y col., 1977). La cosecha de los frutos se dificulta por la presencia de abundantes espinas en los tallos, pedúnculos foliares y hojas. Se puede arrancar toda la planta, dejar secar las hojas 2 a 3 días y recoger entonces los frutos, aunque también se ha realizado la aplicación de defoliantes químicos como el etefón (Seoane y col., 1988). Igualmente, se han diseñado implementos para la cosecha mecanizada. El rendimiento es de 1,8 Kg/planta de fruto fresco aproximadamente, con un contenido medio de 1.5 a 2.0% de solasodina.

Procesamiento de los frutos. Los frutos se desmenuzan completos a mano o en máquina picadora y se secan, primero un día al sol y después en estufa a 60 °C, o también se puede utilizar un secador solar que resulta más económico, entonces se reducen a polvo en un molino. Se determina la humedad residual llevando una muestra del polvo hasta peso constante en estufa.

Experimentos de laboratorio. Extracción y purificación. Se emplearon varios métodos extractivos.

- Aislamiento del crudo de glicoalcaloides, identificado como extracto IN-70
- Decocción en alcohol sin purificar y concentración en el evaporador rotatorio de vacío, identificado como extracto IN-71.
- Maceración en agua del polvo seco al 10% en peso/volumen toda la noche, agitación mecánica por 2 horas a la mañana siguiente y filtración, identificado como extracto IN-100.

Efectividad biológica. Para determinar el efecto molusquicida a escala de laboratorio se siguió la metodología de trabajo explicada anteriormente. Las observaciones se realizaron a las 8 y 24 horas de la aplicación para evaluar porcentaje de mortalidad.

Pruebas en unidades productivas. Con el objetivo de evaluar en condiciones naturales la efectividad del extracto acuoso de *S. globiferum*, cuya obtención es más fácil y económica, en septiembre de 1994 se montó un experimento en la unidad de cultivo sin suelo del INIFAT, en el cultivo del berro.

Se utilizaron dos canaletas de 8 x 1 m, cuyo sustrato fue roca basáltica, el riego por microjet, y la composición de la solución nutritiva correspondió a la fórmula universal de Steiner. Se hizo un conteo previo de los moluscos presentes, el que mostró una infestación ligera de 12 caracoles/m² correspondientes a la especie *P. griseola*.

La mezcla con agua del polvo de los frutos a la concentración de 10% peso/volumen se preparó en horas de la mañana, agitando ocasionalmente, se dejó en reposo 2 horas antes de la aplicación y se decantó el sobrenadante para efectuar la misma sobre el cultivo al caer la tarde, aprovechando el incremento de la actividad alimentaria de los moluscos. La evaluación se realizó a las 24 horas, observándose un 100% de mortalidad. Los moluscos muertos fueron recogidos y enterrados.

A partir de estos resultados se decidió realizar un experimento más amplio en condiciones de producción en el Organopónico INRE 1 del Instituto Nacional de la Reserva Estatal. La composición del sustrato fue de 25% de suelo y 75% de materia orgánica. El tamaño de las canaletas fue de 1.60 x 30 m en los cultivos de cebolla y berro, y de 0.45 x 32 m en la habichuela. El extracto acuoso del polvo de los frutos al 10% y la forma de aplicación y evaluación se hicieron como en el experimento anterior en hidropónico. La solución final fue de 300 L/ha.

RESULTADOS

Los resultados de las pruebas de laboratorio con las concentraciones utilizadas del crudo de glicósidos, extracto alcohólico y polvo de los frutos se muestran en la Tabla 3, donde puede apreciarse la buena efectividad de todos los extractos con relación al testigo.

Los resultados en el organopónico se muestran en la Tabla 4, donde la efectividad del extracto fue buena, aunque ligeramente menor en la habichuela, lo que puede deberse a la mayor altura y follaje de las plantas que sirve de escondite a los moluscos, por lo que será necesaria más de una aplicación para lograr un control efectivo.

Por último, para investigar la compatibilidad con otros extractos naturales, y al mismo tiempo disminuir la dosis utilizada, se realizó una aplicación en todo el organopónico con una mezcla de dos partes de tabaquina y una parte del polvo de los frutos de *S. globiferum*, bajo las mismas condiciones anteriores, lográndose disminuir ostensiblemente la población de moluscos hasta índices no comprometedores, fundamentalmente en el cultivo de la lechuga. En el Organopónico INRE 1 la operación para eliminar los moluscos se hacía colocando sacos húmedos para que se adhirieran y

después matarlos, lo cual llevaba un tiempo de 2 horas-hombre/día, debiendo repetirse por varios días para garantizar una disminución aceptable de la población.

VALORACIÓN ECONÓMICA

Cada planta de *S. globiferum* aporta en cada cosecha unos 300 g de frutos secos y reducidos a polvo, como promedio, y usando una solución final de 300 L/ha al 10% se necesitarían 30 kg de este molinado para aplicar un área efectiva de 1 ha, lo que significa recoger frutos de 100 plantas que ocuparían aproximadamente 50 m². Se necesita 1 L del preparado para aplicar una canaleta de 1 x 10 m de área efectiva. Se realizan como mínimo 5 pases de cosecha de los frutos, aunque lógicamente, el primero y el último aportan menos frutos.

El cultivo y cosecha de estas 100 plantas representaría el siguiente gasto:

Materiales directos	13.54
Salario básico	58.80
Seguridad social	6.47
Energía	10.75
Gastos indirectos	3.00
Total	92.56 MN

Si comparamos esta cantidad en moneda nacional con el gasto en divisas que significaría aplicar igual área con productos químicos, evidentemente existe un ahorro y un mayor cuidado del medio ambiente con el uso de extractos naturales. Teniendo en cuenta la red de instalaciones de la Agricultura Urbana en todo el país, es evidente la necesidad de contar con productos naturales para el control de moluscos, e iniciar estudios sobre las pérdidas económicas que producen en los cultivos, las principales especies presentes y métodos alternativos de control.

DETERMINACIÓN ANALÍTICA DE SOLASODINA Y SUS GLICÓSIDOS EN FRUTOS DE *SOLANUM GLOBIFERUM* DUN.

Dados los diferentes factores que inciden en la concentración de los principios activos en las plantas, se hace necesario disponer de métodos analíticos sensibles y reproducibles capaces de cuantificarlos en los preparados artesanales y las formulaciones, pues de esto dependerá su eficiencia biológica, por lo cual se desarrolló una técnica para determinación analítica de solasodina y sus glicósidos en frutos de *S. globiferum*.

Para la obtención del crudo de glicoalcaloides se siguió la técnica de Mola et al. (1987)

Preparación de la muestra.

Los frutos verdes y/o pintones procedentes de parcelas del INIFAT se trocearon y secaron 2 días al sol y después en estufa a 50° C, molinándose a un tamaño de partícula de 80 mesh.

Técnica para la extracción.

El polvo de los frutos se macera en alcohol por 48 h., se filtra y se reserva esta solución etanólica; al residuo sólido se le añade etanol al 95% y se efectúan 3 decocciones sucesivas con etanol, a reflujo, por 3 h. cada una, se filtra y esta solución alcohólica se une con la primera, se concentra en el rotoevaporador a 40° C y se desecha el residuo sólido. Al extracto concentrado se le añade HCl 0.5N, se agita y se calienta a 65° C., filtrándose al vacío sobre lienzo + decalite. Después de desechar la torta, el filtrado se calienta a 65° C y se extrae 3 veces con tolueno con el objetivo de eliminar grasas y sustancias coloreadas, la fase de tolueno se elimina y la solución acuosa-alcohólica-ácida se calienta a 65° C. Los glicoalcaloides se precipitan con NaOH 6N, se centrifuga y se lava el precipitado con amoníaco al 1%, obteniéndose así el crudo de glicoalcaloides, que se redisuelve en etanol, y para obtener el alcaloide se somete a una hidrólisis con HCl.

Separación cromatográfica

El crudo se evaluó por cromatografía gas-líquido (CGL) y CCD con las siguientes condiciones:

Condiciones de la cromatografía de gases

Equipo: Chromatron

Columna: de vidrio de 1 m x 3 mm de diámetro interno rellena con OV-17 al 3% sobre Chromosorb W-AW-DMCS-HP de 80-100 mesh.

Detector: ionización por llama.

Temperatura de la columna: 285 °C

Temperatura del inyector: 320 °C

Temperatura del detector: 350 °C

Flujo de gas portador: 48 ml/min.

Con estas condiciones el tiempo de retención de la solasodina es de 10 min, tanto para el patrón analítico como para el pico que aparece en las muestras, y el contenido en los frutos de *S. globiferum* es de alrededor de 1% como promedio, lo cual concuerda con los rendimientos óptimos del alcaloide según Seoane et al. (1988).

Condiciones de la cromatografía de capa delgada.

Placas se sílica gel G 60

Activación: 30 min a 120 °C

Fase móvil: cloroformo:metanol:agua 70:30:5

Revelador: cámara con vapores de yodo.

Con esta técnica se obtienen extractos bastante libres de impurezas en los que se pueden visualizar los glicoalcaloides solamargina y solasonina, a pesar de que no contábamos con los patrones analíticos.

COMPATIBILIDAD DE LOS EXTRACTOS DE SOLANUM GLOBIFERUM CON BIOPLAGUICIDAS

Los plaguicidas botánicos, para su inserción en los programas de Manejo Integrado de Plagas, necesitan ser compatibles con los medios biológicos de uso corriente para no afectar la efectividad de ambos, por esta razón se estudió, a nivel de laboratorio, la compatibilidad de extractos de *S. globiferum* con diferentes bioplaguicidas microbianos.

La compatibilidad del formulado FL-60, a partir de un extracto alcohólico de frutos de *S. globiferum* al 10% p/v, se estudió en condiciones in vitro frente a los hongos *Verticillium lecanii*, *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus*, para lo cual se confeccionó el medio papa-dextrosa-agar, el que se distribuyó a razón de 60 ml de medio por erlenmeyer.

Después de la esterilización y cuando los medios alcanzaron una temperatura aproximada a los 45 °C, cada erlenmeyer se inoculó con el plaguicida botánico a las concentraciones de 1, 0.5 y 0.1%. El medio inoculado se vertió en placas Petri y en el centro de cada placa se colocó un disco de micelio de 5 mm de diámetro de los microorganismos anteriormente señalados.

Se conformaron 3 réplicas por concentración para cada microorganismo y un testigo sin envenenar. Las observaciones se realizaron a los 10 días, midiendo el diámetro de las colonias en las placas tratadas y testigo, determinando la inhibición del crecimiento de los hongos mediante la fórmula de Molera (1994).

El criterio de toxicidad se estableció según la clasificación de la OILB en estudios de laboratorio según la siguiente escala:

- Inofensivo < 30%
- Ligeramente tóxico 30 – 70%
- Moderadamente tóxico 80 – 90%
- Tóxico > 90%

Como puede observarse en la Tabla 5 el formulado FL- 60 resultó inofensivo a la concentración de 0.1% para los hongos *B. bassiana* y *P. fumosoroseus*, resultando ligeramente tóxico a las concentraciones de 0.5 y 1%, por lo que consideramos compatibles a los hongos *B. bassiana* y *P. fumosoroseus* con el plaguicida botánico a la concentración de 0.1% y ligeramente compatible en los demás casos. Con el hongo *V. lecanii* a las tres concentraciones resultó ligeramente toxico. Para ninguna de las concentraciones estudiadas el formulado resultó tóxico a los microorganismos ensayados.

EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA DE LOS EXTRACTOS DE LOS FRUTOS DE *SOLANUM GLOBIFERUM*.

Aunque generalmente se piensa que los plaguicidas de origen natural son menos tóxicos que los químicos sintéticos, se debe recordar que los tóxicos más potentes se encuentran precisamente en la naturaleza, tal es el caso de la nicotina, cuya DL₅₀ oral aguda en ratas es de 50 mg/Kg., por lo cual la evaluación toxicológica de estos productos es indispensable para el registro y uso posterior.

Los estudios toxicológicos con los extractos de *S. globiferum* se realizaron en el Centro Nacional para la Reproducción de Animales de Laboratorio (CENPALAB). Por lo extenso de los protocolos, solamente se expondrán las conclusiones de los mismos. En

los ensayos realizados se utilizó el extracto acuoso al 10, 20 y 30% del polvo de los frutos secos.

Test de clasificación de *S. globiferum*. El objetivo de este ensayo es valorar el daño que ocasiona el producto al organismo vivo, por lo que se determinó el tiempo de muerte, se realizaron observaciones clínicas diarias valorando los posibles síntomas de toxicidad y el comportamiento del peso corporal, en los días 0, 7 y 14 del ensayo. Se evaluaron los daños patológicos e histopatológicos.

Evaluación mutagénica de *S. globiferum*. Con el objetivo de evaluar el potencial genotóxico del producto, se realizó una batería de pruebas que incluyó: el ensayo de análisis citogenético de la médula ósea de ratas Cnp:SPRD utilizando una dosis única; el ensayo de micronúcleos de la médula ósea del ratón; el ensayo de micronúcleos de sangre periférica de ratón, y se evaluaron dosis crecientes del producto mediante el ensayo de las anomalías de la cabeza del espermatozoide del ratón Cnp:NMRI.

Evaluación ecotoxicológica de *S. globiferum*. Para evaluar el posible efecto tóxico ambiental del producto se realizó, de acuerdo a los protocolos de trabajo del CETEX, una prueba de toxicidad aguda en peces utilizando alevines de Tilapia roja (*Oreochromis* sp.) suministrados por el Centro de Cultivo Superintensivo de Peces del CENPALAB.

Resultados. Bajo las condiciones experimentales empleadas, y con el biomodelo y nivel de dosis utilizado, el *S. globiferum* no provocó muertes ni efectos tóxicos. De acuerdo al sistema de Clasificación de la Toxicidad Aguda (OECD, París, 1993), ésta es **no clasificada**, o sea, su DL_{50} es ≥ 2000 mg/Kg de peso corporal.

Con los resultados obtenidos y las condiciones del ensayo **no se detectó efecto mutagénico** sobre los cromosomas de la médula ósea de las ratas y por tanto se puede concluir que el *S. globiferum* en el nivel de dosis aplicado, como sustancia de ensayo, no posee efectos mutagénicos, clastogénicos ni citotóxicos, los ensayos de micronúcleos en sangre periférica y en células espermáticas también fueron negativos.

Con los resultados obtenidos y en las condiciones del ensayo se plantea que *S. globiferum* provocó en las concentraciones de 20, 44 y 96.8 mg/L una degradación del medio con afectación para el valor del oxígeno disuelto, siendo de 3.2, 2.3 y 1.0 mg/L respectivamente para las primeras 24 horas, así como un rango de mortalidad entre 30 y 40% en Tilapia. Esto se relaciona con el uso de esta planta como barbasco, o sea, para capturar peces.

CONCLUSIONES

Se presentan 32 especies de plantas nativas o introducidas en Cuba con actividad molusquicida, siendo los principales metabolitos secundarios involucrados los alcaloides, glicósidos cardiotónicos, saponinas, triterpenos y lactonas.

De las 7 especies evaluadas en experimentos de laboratorio, las más efectivas fueron *S. globiferum*, *S. mammosum*, *J. curcas*, *A. indica* y *C. edulis*, aunque debe continuarse trabajando con las otras para elevar su potencial y ajustar rangos de dosis.

Se desarrolló una metodología para la evaluación del efecto molusquicida en laboratorio, y una técnica analítica para la determinación de solasodina en los extractos.

El extracto acuoso al 10% de los frutos secos y molidos de *S. globiferum* puede utilizarse para el control de moluscos en las instalaciones de la Agricultura Urbana, produciendo una mortalidad entre 75 y 100% con una sola aplicación, pudiéndose aplicar varias dosis según el comportamiento de la plaga.

El extracto es compatible con tabaquina y con los medios biológicos más comunes.

El uso de este molusquicida botánico no produce contaminación en los cultivos ni es dañino al hombre ni a los animales.

APRECIACIONES Y RECOMENDACIONES FINALES.

Las investigaciones realizadas a lo largo de 10 años con esta planta permitieron el Registro de Marca **SOLASOL** para el uso del polvo de los frutos de *S. globiferum*, y a pesar de estar incluido en el Manual de Organopónicos y Huertos Intensivos, y emplearse con éxito en las instalaciones del INIFAT y de algunas CCS, todavía no se ha llegado a concientizar a los productores sobre las ventajas del uso de los plaguicidas botánicos, por lo que se requiere extender el cultivo de la planta y la metodología de aplicación entre los productores que lo necesiten.

REFERENCIAS

- Companioni, N, Rodríguez, A., Carrión, M. Alonso, R. M., Ojeda, Y., y Peña, E. (1997):** La Agricultura Urbana en Cuba: su participación en la seguridad alimentaria. Conferencias. III Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica. Villa Clara: 9-13
- Coto, T y Saunders, J.L (1985):** Prevención alimenticia de la babosa *Diplosolenodes occidentale* con repelentes botánicos. Ceiba, Vol. 26 (1):66-75
- Mola, J. L, Timor, C, Pérez, C, Basterrechea, M, Coll, F, Gyori, M, y González, O. (1987):** Glicoalcaloides del *Solanum globiferum*. Rev. Plantas Medicinales 7: 58 – 67
- Molera, A. (1994):** Practice oriented results on use and production of neem ingredients and pheromones. 3er. Workshop Ed. 99 – 113 pp.
- Piña, M., Diéguez, I., Abreu, O y González, G (1996):** actividad molusquicida de *Sapindus saponaria* L, *Melia azedarach* L, y *Momordica charantia* L sobre el principal hospedero de fascioliasis en Cuba: *Fosaria cubensis*. Resúmenes. VIII Jornada Científica INIFAT.
- Seoane, R, Acosta, J, Villasana, R y Pèrez, D: (1988).** Defoliacion de plantas de *Solanum globiferum* con ácido 2-cloroetilfosfónico (Flordimex) para facilitar la cosecha de los frutos . Rev. Plantas Medicinales 8: 61-65.
- Telek, L, Delfen, H y Cabanillas, E (1977):** *Solanum mammosum* as a source of Solasodine in the lowland tropics. Econ. Bot. Vol. 31 (2) pp: 120.

Revista Agrotecnia de Cuba

Tabla 1. Plantas molusquicidas nativas o introducidas en Cuba.

Familia	Planta	Nombre Común	Parte de la planta	Compuestos Reportados	Moluscos que controla
Anacardiaceae	<i>Anacardium occidentale</i>	Marañón	frutos (extracto acuoso)	saponinas, taninos	<i>Diplosolenoides Occidentale</i>
Apocynaceae	<i>Nerium oleander</i>	adelfa, rosa francesa	hojas	cardenólidos, alcaloides	<i>Sarasinula plebeia</i>
	<i>Cerbera thevetia</i>	cabalonga	frutos	heterósidos – cardiotónicos	<i>Sarasinula plebeia</i>
	<i>Rauvolfia caffra</i>	rauvolfia	raíz	alcaloides	<i>Bulinus globosus</i>
Asclepiadaceae	<i>Cryptostegia grandiflora</i>	estrella del norte	tallo	alcaloides (extracto acuoso)	<i>Bulinus globosus</i>
Asteraceae	<i>Artemisia absinthium</i>	ajenjo, incienso	hojas, brotes	cineol, alcaloides	Babosas
	<i>Parthenium hysterophorus</i>	escoba amarga	hojas	lactonas sesquiterpénicas	<i>Sarasinula plebeia</i>
Bignoniaceae	<i>Spathodea campanulata</i>	Espatodea	-	-	<i>Bulinus africanus</i>
Caesalpinaceae	<i>Delonix regia</i>	Flamboyan	tallo	-	<i>Bulinus globosus</i>
Cannaceae	<i>Canna indica</i>	platanillo de Cuba	raíces(extracto éter y cloroformo)	lactona esteroideal	<i>Biomophalairia-Alexandrina</i>
Cucurbitaceae	<i>Momordica charantia</i>	Cundeamor	semillas	alcaloides	<i>Fossaria cubensis</i>
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia tirucalli</i>	-	brotes	-	Babosas
	<i>Jatropha curcas</i>	piñón botija	semillas (extracto alcohólico)	alcaloides, saponinas	<i>Praticolella griseola</i> <i>Lymnaea luteola</i>
	<i>Jatropha gossypifolia</i>	frailecillo, túa-túa	semillas (extracto n-butanol)	-	
Fabaceae	<i>Canavalia ensiformis</i>	frijol machete	semillas	aminoácidos, proteínas	<i>Diplosolenodes-Occidentale</i>
	<i>Crotalaria retusa</i>	maromera	semillas	alcaloides, saponinas	<i>Diplosolenodes-Occidentale</i>
	<i>Mucuna pruriens</i>	pica pica	hojas	-	<i>Sarasinula plebeia</i>
Lamiaceae	<i>Hyptis pectinata</i>	cógetelo todo	hojas	-	<i>Bulinus globosus</i>
Meliaceae	<i>Azadirachta indica</i>	Nim	semillas, hojas, aceite	triterpenos (azadirachtina)	<i>Lymnaea acuminata</i> <i>Fossaria cubensis</i>
	<i>Melia azedarach</i>	Paraíso	frutos, semillas	triterpenos	
Mimosaceae	<i>Acacia nilotica</i>	goma arábica	corteza (extracto acuoso)	-	Babosas
	<i>Entada phaseoloides</i>	poja	corteza	alcaloides	<i>Lymnaea auricularia</i> <i>Bulinus globosus</i>
	<i>Dichrostachys glomerata</i>	marabú, aroma	hojas	taninos	
Olacaceae	<i>Ximena americana</i>	Aceitunillo	hojas	-	<i>Bulinus globosus</i>
Phytolaccaceae	<i>Phytolacea dodecandra</i>	bledo carbonero	frutos	saponinas	<i>Bulinus africanus</i>
Sapindaceae	<i>Blighia sapida</i>	seso vegetal	frutos (extracto acuoso)	saponinas	<i>Diplosolenodes-occidentale</i>
	<i>Sapindus saponaria</i>	jaboncillo	semillas	alcaloides, saponinas	<i>Fossaria cubensis</i>
Solanaceae	<i>Nicotiana tabacum</i>	Tabaco	hojas	alcaloides	<i>Lymnaea auricularia</i> <i>Praticolella griseola</i>
	<i>Solanum globiferum</i>	güirito espinoso	frutos	alcaloides esteroidales	<i>Praticolella griseola</i>
	<i>Solanum mammosum</i>	güirito de pasión	frutos	alcaloides esteroidales	
Theophrastaceae	<i>Jacquinia aurantiaca</i>	-	Toda la planta	-	<i>Veroncillidae</i>
Zigofilaceae	<i>Guajacum officin.</i>	Guayacán	corteza	guayacol	babosas

Tabla 2. Resultados de los experimentos de laboratorio

Planta	Parte de la Planta	Concentración del Extracto	% de mortalidad			
			<i>P. griseola</i>		<i>S. sagra</i>	
			24 h.	48 h.	24 h.	48 h.
<i>A. indica</i>	Semillas	Aceite formulado 1%	60	65	*	*
<i>C. edulis</i>	Rizoma fresco	Acuoso 25%	45	60	*	*
		Alcohólico 25%	5	5	*	*
<i>J. curcas</i>	Semillas	Alcohólico 50%	90	100	*	*
		Alcohólico 25%	75	100	*	*
		Aceite formulado 50%	80	80	*	*
<i>M. azedarach</i>	Frutos	Aceite formulado 1%	45	45	*	*
<i>N. oleander</i>	Hojas secas	Alcohólico 50%	0	0	*	*
		Alcohólico 25%	0	0	*	*
	Hojas frescas	Acuoso 25%	10	10	*	*
		Acuoso 12.5%	5	5	*	*
<i>S. globiferum</i>	Frutos	Alcohólico 25%	100	*	100	*
		Alcohólico 12.5%	100	*	100	*
		Acuoso 10%	100	*	100	*
		Acuoso 5%	75	*	85	*
<i>S. mammosum</i>	frutos	Alcohólico 25%	100	*	100	*
		Alcohólico 12.5%	100	*	96	100

* no se hicieron las pruebas

Tabla 3. Porcentaje de mortalidad de los moluscos a las 24 horas con los formulados.

Variantes	<i>S. sagra</i>	<i>P. griseola</i>
IN-70 25%	100	100
IN-70 12.5%	100	100
IN-71 25%	100	90
IN-100 10%	100	90
IN-100 5%	80	75
Testigo	0	10

Tabla 4. Resultados obtenidos en organopónico.

Observaciones	cebolla	berro	habichuela
Infestación previa (no. moluscos/m ²)	16	84	80
Mortalidad a las 24 h. de la aplicación (%)	100	100	75

Tabla 5. Compatibilidad del formulado FL-60 sobre hongos entomopatógenos

Microorg.	Conc. FL-60 (%)	x del Ø de colonias en los tratam.	x del Ø de colonias en el testigo	% de inhibición	Toxicidad
V. lecanii	1	16	30	46.66	Lig. tóxico
	0.5	14.6		51.33	Lig. tóxico
	0.1	17		43.33	Lig. tóxico
B. bassiana	1	15.33	24	36.12	Lig. tóxico
	0.5	17		29.16	Inofensivo
	0.1	17.5		27.08	Inofensivo
P. fumosoroseus	1	15.33	32.33	52.75	Lig. tóxico
	0.5	17.66		45.37	Lig. tóxico
	0.1	23.33		27.83	Inofensivo