

ACTIVIDAD MOLUSQUICIDA DEL PIQUEROL A AISLADO DE *PIQUERIA TRINERVIA* (COMPOSITAE) SOBRE OCHO ESPECIES DE CARACOLES PULMONADOS

ALEJANDRO CRUZ-REYES, CAROLINA CHAVARIN*, MARTHA P. CAMPOS ARIAS*,
JAVIER TABOADA* & MANUEL JIMENEZ E.*

Instituto de Biología, U. N. A. M., Apartado Postal 70-153, 04510, México, D. F., México *Instituto de Química,
U. N. A. M., Circuito Exterior No. 2, 04510, México, D. F., México

The molluscicide activity of Piquerol A isolated from *Piqueria trinervia* (Compositae) against eight species of pulmonate snails – In laboratory trials an aqueous solution of Piquerol A from *Piqueria trinervia*, collected in several regions of Mexico, showed a molluscicide action on the adults of eight different pulmonate snails species: *Fossaria* (*Fossaria*) *humilis*, F. (*Bakerilymnaea*) *sp.*, *Pseudosuccinea columella* and *Stagnicola attenuata* from Mexico; F. (B.) *cubensis* and *Physa cubensis* from Cuba; *P. columella* and *Biomphalaria glabrata* from Brazil; *B. glabrata* from Puerto Rico; and *S. elodes* from U. S. A. The solution was tested at 50, 25 and 5 ppm concentration, for two periods of 6 and 24 hours, at room temperature (20-22 °C). A 100% mortality was obtained for all species at 50 ppm concentration after 6 hours of exposure; the same percentage at 25 ppm after 24 hours; and 60 to 100% mortality at 5 ppm concentration during 24 hours of exposure. No recovery was observed among any of the treated snails. Piquerol A is a sesquiterpene with low stability in nature and has previously only been tested as an insecticide and as an inhibitor of metabolism in cell cultures: no field trials have been made on its toxicity to other aquatic fauna as yet, but it is believed Piquerol A could be an excellent molluscicide for use in areas where focal transmission of schistosomiasis and fascioliasis are taking place. This is the first time experiments on molluscicides have been carried out in Mexico.

Key words: *Biomphalaria glabrata* – *Fossaria* spp. – *Pseudosuccinea columella* – *Stagnicola* spp. – *Physa* – schistosomiasis – fascioliasis – snail control – molluscicide plant – *Piqueria trinervia*

El control de los caracoles que actúan como vectores de enfermedades parasitarias de humanos y de algunos animales de importancia económica, representa un medio efectivo y rápido para reducir la transmisión de parásitos como *Schistosoma mansoni* y *Fasciola hepatica*.

Estudios recientes han demostrado que la aplicación de molusquicidas sintéticos afecta seriamente el habitat de moluscos de agua dulce, actuando como biocidas residuales que eliminan flora y fauna asociados con los caracoles que se desean eliminar. Por esto es que se ha incrementado el interés por el estudio de extractos o productos aislados de plantas, para emplearlos como molusquicidas con la esperanza que estos sean más baratos, efectivos, menos

contaminantes y a la vez se apliquen con técnicas simples (WHO, 1983).

Para el control y prevención de la schistosomiasis es importante asociar el uso de molusquicidas de origen vegetal, quimioterapia y campañas de educación sanitaria entre la población humana expuesta al riesgo (Kloos & McCullough, 1982).

Se pueden citar numerosos trabajos que muestran el interés que existe por los extractos de plantas como molusquicidas; sin embargo, los más recientes son: Kloss & McCullough, 1982; Hostettmann, 1984; Jurberg et al., 1985; Marston & Hostettmann, 1985; Mendes et al., 1986; Kenneth, 1987.

Muchos países en vías de desarrollo están reduciendo las compras de compuestos químicos sintéticos que se usan como molusquicidas, por su alto costo y por las legislaciones en contra del uso indiscriminado de molusquicidas. A

Este trabajo fue presentado en el I Congreso Internacional de Malacología Médica y Aplicada, Junio 2-6, 1987, Monterrey, N. L., México.

Recibido el 27 de Mayo de 1988.
Aceptado el 3 de Enero de 1989.

ésto, se agrega el hecho de que algunas poblaciones de caracoles están desarrollando resistencia a los compuestos sintéticos (McCullough et al., 1980).

En la actualidad existen aproximadamente más de cincuenta compuestos molusquicidas que han sido aislados de plantas incluyendo saponinas, terpenoides, flavonoides, naftoquinonas y taninos (Hostettmann, 1984). Los estudios sobre molusquicidas, tanto sintéticos como naturales, se han orientado para el control de los caracoles vectores de *S. mansoni*. Sólo algunos autores han puesto atención para el control de caracoles limnaeidos, vectores de *F. hepatica* (Medina & Ritchie, 1980; Alzérreca et al., 1981; Shoeb et al., 1986) utilizando extractos vegetales.

En el presente trabajo se muestra la acción molusquicida de un compuesto terpenoide conocido como Piquerol A, aislado de *Piqueria trinervia* (Compositae), endémica y de amplia distribución en todo México (Romo et al., 1970; Rubio et al., 1985). Entre otras propiedades que presenta este compuesto, están las de inhibir la germinación de semillas y como insecticida (González de la Parra et al., 1981).

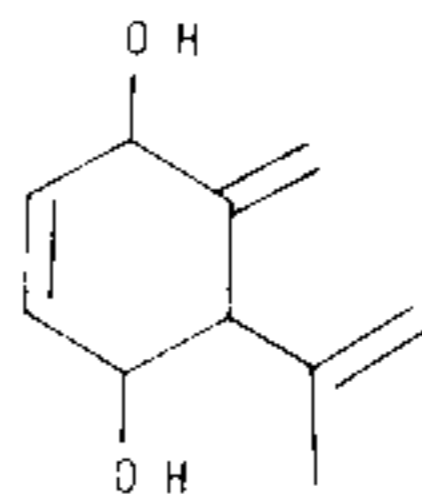
El Piquerol A se probó en condiciones de laboratorio en contra de seis especies de limnaeidos, una de planórbidos y una de físidios.

MATERIALES Y METODOS

Durante la mayor parte de los experimentos se siguieron los lineamientos señalados por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 1965; 1983).

Planta: la planta utilizada, *Piqueria trinervia* de la familia de las Compuestas, es una herbácea de amplia distribución en el territorio mexicano, se ha colectado en los meses de agosto a diciembre. Ejemplares de esta especie se encuentran en el Herbario Nacional, Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (Apartado Postal 70-233, 04510, D. F., México).

Principio activo: para la obtención del Piquerol A se utilizó el método descrito por Romo et al. (1970). Se usaron todas las partes aéreas de la planta. La estructura química del Piquerol A fue confirmada por rayos X (Soriano et al., 1983).



El Piquerol A se trabajó en soluciones acuosas preparadas de la siguiente forma: la cantidad pesada de sólido cristalino para las diferentes concentraciones: 50, 25 y 5 ppm, se disolvió en 1 ml de alcohol etílico y se llevó a un litro con agua de clorinada. Cada concentración se colocó en cristalizadores de 300 ml de capacidad.

Moluscos: las especies colectadas en México son las siguientes: *Fossaria (Fossaria) humilis*, se colectó en la Laguna de Zupitlán, del poblado de Tulancingo en el Estado de Hidalgo; *Fossaria (F.)* sp. fue colectada en la localidad de Cholula, Estado de Puebla; *Pseudosuccinea columella*, se colectó en Avándaro, Estado de México. Estas especies son transmisoras de *Fasciola hepatica* en México (Cruz-Reyes & Malek, 1987). *Stagnicola attenuata*, de las Lagunas de Zempoala, Estado de Morelos, es un limnaeido que no transmite *F. hepatica*; *F. (Bakerilymnaea) cubensis* y *Physa cubensis* de la Habana, Cuba; *Biomphalaria glabrata* (albino) de Puerto Rico y *B. glabrata* de Belo Horizonte, Brasil, son transmisores de *S. mansoni*. También se utilizó una población de *P. columella* procedente de Brasil; *S. elodes* de Ann Arbor, de Michigan, E. U. A. Todos los caracoles se cultivaron en acuarios de 10 galones con aire bombeado y alimentados *ad libitum* con lechuga fresca lavada previamente. Los caracoles limnaeidos fueron identificados utilizando el criterio propuesto por Burch (1982).

Toxicidad: los bioensayos se realizaron en cristalizadores de 300 ml de capacidad en los que se colocaron 250 ml de las diluciones correspondientes a 50, 25 y 5 ppm. Para cada exposición se utilizaron entre 5 y 10 caracoles adultos por recipiente, según la disponibilidad de los mismos, al control se le agregó la misma cantidad de alcohol empleada para preparar las tres diluciones. Durante el período de exposición al Piquerol A, los recipientes se cubrieron con una tapa de vidrio y se mantuvieron a temperatura ambiente (20-22 °C). En ningún caso los caracoles se alimentaron durante el experimento. Los ejemplares de todas las espe-

TABLA

Actividad molusquicida del Piquerol A extraído de *Piqueria trinervia* (Compositae) sobre ocho especies de caracoles pulmonados*

Molusco	Concentración (ppm)						Control
	50 ppm		25 ppm		5 ppm		
	6 h-%	24 h-%	6 h-%	24 h-%	6 h-%	24 h-%	
<i>Fossaria (Fossaria) humilis</i> (Hidalgo, México)	20/20:100	--	15/20:75.0	20/20:100	11/20:55.0	16/20:80.0	0/20
<i>Fossaria (Bakerilymnaea) sp.</i> (Puebla, México)	15/15:100	--	15/15:100	--	5/15:33.3	10/15:66.6	0/15
<i>Pseudosuccinea columella</i> (Estado de México, México)	30/30:100	--	5/30:16.6	30/30:100	5/30:16.6	30/30:100	0/30
<i>Stagnicola attenuata</i> (Morelos, México)	10/10:100	--	10/10:100	--	5/10:50.0	6/10:60.0	0/10
<i>Fossaria (Bakerilymnaea) cubensis</i> (Cuba)	9/9:100	--	9/9:100	--	9/9:100	--	0/9
<i>Physa cubensis</i> (Cuba)	15/15:100	--	12/15:80.0	15/15:100	5/15:33.3	15/15:100	0/15
<i>Pseudosuccinea columella</i> (Brasil)	19/19:100	--	18/19:94.7	19/19:100	8/19:42.1	14/19:73.6	0/19
<i>Biomphalaria glabrata</i> (Brasil)	15/15:100	--	13/15:86.6	15/15:100	8/15:53.0	15/15:100	0/15
<i>Biomphalaria glabrata</i> (Puerto Rico)	35/35:100	--	23/35:65.7	35/35:100	12/35:34.2	30/35:85.5	0/35
<i>Stagnicola elodes</i> (Michigan, EUA)	8/8:100	--	8/8:100	--	5/8:62.5	6/8:75.0	0/8

* Para cada concentración se anota: a) período de exposición, 6 y 24 horas; b) caracoles muertos y caracoles expuestos y el porcentaje de letalidad.

cies en estudio, provinieron de varias generaciones obtenidas en el laboratorio. Las observaciones se hicieron a las 6 y a las 24 horas después de la exposición al Piquerol A. La periodicidad lumínica fue la normal del día. Los caracoles que permanecieron activos y los inactivos que presentaban latidos del corazón se colocaban en otro recipiente conteniendo el mismo volumen de agua para observar recuperación. La determinación de muerte se hizo cuando el corazón dejó de latir, observando bajo el microscopio de disección a las 6 y 24 horas.

RESULTADOS

En la Tabla se presentan los resultados obtenidos de los bioensayos con Piquerol A, sobre ocho especies de caracoles.

Se observó que a la concentración de 50 ppm, después de 6 horas de exposición, todos los caracoles se morían o cuando menos el movimiento del corazón era muy lento. La mortalidad en las otras dos concentraciones (25 y 5 ppm) fue muy variable en todas las especies después de las primeras 6 horas, por lo que se decidió tomar como definitivo el período de 24 horas (WHO, 1983).

DISCUSION

De acuerdo con la Guía de Evaluación para Molusquicidas de Origen Vegetal de la Organización Mundial de la Salud (WHO, 1983), el Piquerol A, cumple con los requisitos fundamentales para ser considerado como un molusquicida natural de uso práctico y potencialmente de uso en gran escala. El Piquerol A es un compuesto que mata a más del 90% de los caracoles en menos de 24 horas a concentraciones menores de 100 ppm (50, 25 y 5 ppm), en una temperatura constante. Para que los experimentos con el Piquerol A esten totalmente de acuerdo con las recomendaciones de la WHO, se requerirán hacer pruebas con soluciones de 20 y 10 ppm. Los resultados aquí presentados indican que el Piquerol A puede ser considerado activo contra el 90% de las especies, *P. columella* de México, *P. cubensis* de Cuba y *B. glabrata* de Brasil.

A los caracoles anfibios (*Fossaria* spp.) no fue necesario exponerlos por tres días a la acción del Piquerol A, ya que a las 24 horas todas las especies presentaron una mortalidad mayor del 90%. De acuerdo con datos no publicados la acción del Piquerol A sobre fosarias cultivadas en lodo es similar a la que se observa

en medio acuático. La solubilidad en agua de esta sustancia reduce la posibilidad de acumulación de residuos tóxicos en el ambiente.

Aunque la mayoría de los estudios sobre molusquicidas de origen vegetal están orientados al control de *Biomphalaria glabrata*, podemos decir que el Piquerol A es un producto molusquicida de "amplio espectro", ya que actúa sobre otros grupos de caracoles igualmente importantes, como son algunos limnaeidos transmisores de *Fasciola hepatica* y también sobre otros gastrópodos de agua dulce transmisores de numerosas especies de tremátodos parásitos de peces, aves y otros huéspedes vertebrados.

Durante nuestros experimentos se observó que la susceptibilidad al Piquerol A, variaba según las diferentes especies estudiadas. A 50 ppm los individuos de *B. glabrata*, eran los primeros en inmovilizarse y morir, aproximadamente después de las primeras 4 horas, le seguían en orden los ejemplares de *Fossaria*, *Stagnicola*, *Physa* y finalmente *Pseudosuccinea*.

No hubo recuperación en ningún caso cuando se usó la concentración de 25 ppm durante 24 horas, la cual se considera la concentración mínima para matar caracoles en un 90%.

A la concentración menor que se utilizó, 5 ppm, todos los porcentajes de mortalidad fueron del 60 al 100%. Aún en esta concentración no hubo recuperación, los caracoles que permanecieron vivos presentaron sólo movimientos muy lentos.

Consideramos que 5 ppm sería la dosis mínima para matar al 50% de los caracoles.

La segunda fase de nuestros experimentos consistirá en realizar pruebas de toxicidad en otros invertebrados y peces que habitan en los mismos ambientes de las especies de caracoles que se encuentran en México, además de las pruebas de campo.

La introducción de *B. glabrata* en México se realizó con extremo cuidado y bajo la responsabilidad estricta del primer autor.

El conocimiento del modo de acción de los molusquicidas de origen vegetal sobre los caracoles de importancia médica, se encuentra limitado en muchos países en vías de desarrollo,

donde precisamente los principales ciclos de transmisión se llevan a cabo. Normalmente los estudios sobre taxonomía básica de moluscos no marinos, no reciben la atención debida, aún menos las investigaciones sobre el metabolismo y fisiología de caracoles de agua dulce. En México existen regiones donde la prevalencia de fasciolosis bovina y ovina es de 80 a 100% (Quiroz & Vásquez, 1982; Reyes, 1979).

RESUMEN

Actividad molusquicida del Piquerol A aislado de *Piqueria trinervia* (Compositae) sobre ocho especies de caracoles pulmonados — De las partes aéreas de la planta *Piqueria trinervia* (Compositae) colectada en diversas áreas de México, se aisló el Piquerol A. Este compuesto se probó como agente molusquicida contra ocho especies de caracoles pulmonados: *Fossaria* (*Fossaria*) *humilis*, *F. (Bakerilymnaea)* sp., *Pseudosuccinea columella*, *Stagnicola attenuata*, de México; *F. (B.) cubensis* y *Physa cubensis*, de Cuba; *P. columella* y *Biomphalaria glabrata*, de Brasil; *B. glabrata*, de Puerto Rico; *S. elodes*, de Estados Unidos. Se utilizaron tres concentraciones 50, 25 y 5 ppm para cada una de las especies y 2 períodos de exposición, 6 y 24 horas, a 20-22 °C. En 50 ppm, después de 6 horas, y 25 ppm, después de 24 horas los ejemplares de todas las especies murieron. En 5 ppm después de 24 horas, se observaron mortalidades de 60 a 100%. En ningún caso se observó recuperación después de la exposición por 24 horas.

El Piquerol A es un terpeno biodegradable que presenta otras actividades biológicas. No se han hecho pruebas de toxicidad en otros animales ni pruebas de campo. Sin embargo, es una substancia con alto potencial de uso como molusquicida en zonas de transmisión focal. Es la primera vez que en México se hacen estudios sistemáticos sobre molusquicidas de origen vegetal.

Palabras clave: *Biomphalaria glabrata* — *Fossaria* spp. — *Pseudosuccinea columella* — *Stagnicola* sp. — *Physa* — schistosomiasis — fasciolosis — molusquicidas — control de caracoles — productos naturales — *Piqueria trinervia*

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro agradecimiento y confianza al Prof. Dr. W. L. Paraense, del Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil, por habernos facilitado ejemplares de *Biomphalaria*

glabrata, *Physa cubensis*, *Fossaria (Bakerilymnaea) cubensis*. También al Prof. Dr. W. Beker, del Museo de Zoología de la Universidad de Hamburgo, República Federal de Alemania, por habernos facilitado los ejemplares de la cepa albina de *B. glabrata* (de Puerto Rico). Igualmente al Dr. J. B. Burch por habernos enviado ejemplares de *Stagnicola elodes*.

REFERENCIAS

- ALZERRECA, A.; ARBOLEDA, B. & HART, G., 1981. Molluscicidal activity of natural products. The effect of solanum glycosidic alkaloids on *Lymnaea cubensis* snails. *J. Agric. Univ. Puerto Rico*, 57: 69-72.
- BURCH, J. B., 1982. *Freshwater snails (Mollusca: Gastropoda) of North America (North of Mexico)*. (Environmental monitoring and support laboratory office of research and development). U. S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, 249 p.
- CRUZ-REYES, A. & MALEK, E. A., 1987. Suitability of six lymnaeid snails for infection with *Fasciola hepatica*. *Vet. Parasitol.*, 24: 203-210.
- GONZALEZ DE LA PARRA, M.; ANAYA, A. L.; ESPINOSA, F.; JIMENEZ, M. & CASTILLO, R., 1981. Allelopathic potential of *Piqueria trinervia* (Cav.) Compositae. *J. Chem. Ecol.*, 7: 509-515.
- HOSTETTMANN, K., 1984. On the use of plants and plant-derived compounds for the control of schistosomiasis. *Naturwissengcharften*, 71: 247-251.
- JURBERG, P.; CABRAL-NETO, J. B. & SCHALL, V. T., 1985. Molluscicidal activity of the "avelos" plant (*Euphorbia tirucalli*, L.) on *Biomphalaria glabrata*, the mollusc vector of schistosomiasis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 80: 423-427.
- KENNETH, M. E. (Ed.), 1987. *Plant molluscicides*. UNDP/WORLD BANK/WHO. John Wiley & Sons LTD. New York. 326 p.
- KLOOS, H. & MACULLOUGH, F. S., 1982. Plant molluscicides. *J. Med. Plant Res.*, 46: 195-209.
- LEMMA, A., 1970. Laboratory and field evaluation of the molluscicidal properties of *Phytolacca dodecandra*. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 42: 597-612.
- MCCULLOUGH, F. S.; GAYRAL, P.; DUNKAN, J. & CHRISTIE, J., 1980. Molluscicides in schistosomiasis control. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 58: 681-682.
- MARSTON, A. & HOSTETTMANN, K., 1985. Review article number 6. Plant molluscicides. *Phytochemistry*, 24: 639-652.
- MEDINA, F. R. & RITCHIE, L. S., 1980. Molluscicidal activity of the Puerto Rican weed, *Solanum nodiflorum*, against snail host of *Fasciola hepatica*. *Econ. Bot.*, 34: 368-375.
- MENDES, N. M.; SOUZA, C. P.; ARAUJO, N.; PEREIRA, J. P. & KATZ, N., 1986. Atividade molusquicida de alguns produtos naturais sobre *Biomphalaria glabrata*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 81: 87-91.
- QUIROZ, R. H. & VAZQUEZ, J. L., 1982. Prevalencia de *Fasciola hepatica* en bovinos estabulados y semi-estabulados en Tarímbaro, Michoacán. Memoria 3a. Reunión Asoc. Mex. Parasit. Vet., Vol. 3, 25.

- REYES, S. R., 1979. Presencia de *Fasciola hepatica* en ganado bovino, su tratamiento y repercusión económica en el Valle de Temascalcingo, Edo. de México. *Vet. Méx.*, 10: 146.
- ROMO, J.; ROMO DE VIVAR, A.; QUIJANO, L.; RIOS, T. & DIAZ, E., 1970. Los componentes terpenoides de la *Piqueria trinervia* Cav. *Rev. Latinoam. Quim.*, 1: 72-81.
- RUBIO, M.; BUNGE, A. V. & JIMENEZ, M., 1985. Estructura electrónica del Piquerol A y Piquerol B. *Rev. Latinoam. Quim.*, 16: 69-72.
- SHOEB, H. A.; HASSAN, A. A. & EL-NAHAS, H. A., 1986. The molluscicidal properties of agavaceae (*Agave attenuata* and *F. gigantea* var. *mediopicata*). *Egypt. J. Vet. Sci.*, 23: 43-50.
- SORIANO-GARCIA, M.; JIMENEZ, E. M.; GONZALEZ, M.; HERNANDEZ, A.; SHATZ, M. & CAMPANA, C., 1983. Crystal and molecular structure of Piquerol A. A Potent growth inhibiting factor. *Chem. Letters*: 617-620.
- WHO, 1965. Molluscicide screening and evaluation. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 33: 567-581.
- WHO, 1983. Report of the scientific working group on plant molluscicide & guidelines for evaluation of plant molluscicides. Geneva (TDR/SCH-SWG (4)/83.3), p. 11.