

Propiedades fitoquímicas, antibacteriana y molusquicida de extractos de *Euphorbia lactea* Haw.



Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo

Autora: Miguel Alejandro Carrasco Álvarez

Tutores:

MSc. Yunel Pérez Hernández

MSc. Conrado Camacho Campos

Julio, 2018



“Ser hombre es una tarea larga y difícil de lograr, a veces se muere siendo varón sin llegar ha ser hombre”.

Ernesto Ché Guevara

Declaración de Autoridad

Declaro que yo, **Miguel Alejandro Carrasco Álvarez**, soy el único autor de este Trabajo de Diploma, en calidad de lo cual autorizo a la Universidad de Matanzas a hacer uso del mismo con la finalidad que estime pertinente.

Firma

DEDICATORIA

Este documento de culminación de estudios está dedicado:

A: mi madre, por brindarme su apoyo en momentos difíciles en los que muchos no creyeron en mí.

A: mis abuelos, que supieron guiarme y aconsejarme para que fuera alguien mejor.

A: mi hermana y a mi familia en general.

AGRADECIMIENTOS

Después de haber culminado satisfactoriamente esta difícil etapa de estudios quisiera mostrar mis más sinceros agradecimientos a:

A mis padres por toda su ayuda y apoyo incondicional para culminar este periodo de mi vida.

A mis tutores MSc. Yunel Pérez Hernández y MSc. Conrado Camacho Campos por brindarme todo su apoyo y por poner a mi disposición todo su conocimiento.

A mis compañeros de estudio por todos los buenos momentos que pasamos juntos.

Al claustro de profesores de la facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Matanzas por brindarme todo su conocimiento en estos cinco largos años de estudio.

OPINIÓN DEL TUTOR

Por medio de la presente hacemos constar que el Trabajo de Diploma presentado en opción al título de Ingeniero Agrónomo titulado: “Propiedades fitoquímicas, antibacteriana y molusquicida de extractos de *Euphorbia lactea* Haw., es resultado de un trabajo constante del aspirante Miguel Alejandro Carrasco Álvarez.

La búsqueda de nuevos fármacos botánicos con actividades antibacteriana y molusquicida, que puedan ser utilizados como productos alternativos a los antibióticos y a los plaguicidas químicos convencionales, constituye un tema de constante investigación, debido entre otros factores al fenómeno de la resistencia a antibióticos que desarrollan muchas cepas patógenas comunes por su uso indiscriminado, y al impacto económico negativo que tienen las plagas como los moluscos en el sector agropecuario. De ahí, que el estudio de las propiedades fitoquímicas, antibacteriana y molusquicida de *Euphorbia lactea* Haw. presente en la flora matancera, constituye una vía para entender los principios activos que justifican sus usos como plantas medicinales y al mismo tiempo, explorar nuevas potencialidades para el control de microorganismos patógenos de origen animal y moluscos plagas, que se presentan en organopónicos y otras formas productivas de la agricultura urbana.

El estudiante Miguel Alejandro Carrasco Álvarez ha realizado una labor profesional durante el desarrollo de su Trabajo de Diploma. Su interés por esta temática, su inteligencia, capacidad e independencia que manifestó durante el trabajo práctico de laboratorio, le permitió ejecutar la presente investigación con un elevado rigor científico. Ha de destacarse su responsabilidad, compromiso y comprensión mostrado por el aspirante, aun cuando hubo necesidad de repetir experimentos en aras de esclarecer algunos resultados y mantener el rigor científico. Estos aspectos, unido al estudio autodidacta en temáticas como la fitoquímica de las plantas y procedimientos bioquímicos de laboratorio, le permitieron aportar al desarrollo de la investigación y concluir exitosamente esta etapa de su vida académica. Como tutores asumimos todos los aciertos y desaciertos del presente trabajo.

Tutores:

MSc. Yunel Pérez Hernández

MSc. Conrado Camacho Campos

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar las propiedades fitoquímicas, antibacterinas y molusquicidas de extractos de tallos de cardón (*Euphorbia lactea* Haw.) presentes en la provincia de Matanzas. Los tallos fueron lavados y secados en estufa a 45°C y luego pulverizados. Se prepararon extractos etanólicos (90%) y acuosos a partir de 100 g de materia seca, los cuales se filtraron y concentraron. Se determinaron las cantidades relativas de varias clases de metabolitos secundarios y se cuantificó el contenido de carbohidratos totales, azúcares reductores y proteínas solubles totales en ambos extractos. Se evaluó la actividad antimicrobiana contra cepas bacterianas Gram + y Gram - mediante la técnica de los pocillos y además, se determinó la actividad molusquicida del látex de esta planta en diferentes diluciones en medio acuoso. Como resultado de la caracterización fitoquímica se observó la presencia de terpenos, flavonoides, saponinas, esteroides, taninos, cumarinas y glucósidos cardiotónicos en extractos etanólicos y acuosos de *Euphorbia lactea* Haw. El extracto etanólico fue el mejor solvente para la extracción de los azúcares totales y reductores, mientras que la extracción de proteínas fue superior en el extracto acuoso. Los extractos etanólicos mostraron una mayor actividad antibacteriana frente a *Proteus* sp. y *Staphylococcus aureus*. El látex de *E. lactea* Haw. evidenció una actividad molusquicida elevada frente a los caracolillos *Zachrysia* sp., con una mortalidad de 90 y 85% con las diluciones 1/50 y 1/100, a las 24 h de aplicado el látex. *Euphorbia lactea* Haw. es una euforbiácea común en los campos cubanos con diferentes principios bioactivos, los cuales son importantes para el tratamiento de enfermedades infecciosas en humanos y animales, así como para el control de moluscos plagas en los organopónicos y otras modalidades de la agricultura urbana.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
Problema científico:.....	2
Hipótesis científica:	2
Objetivo general:	2
Objetivos específicos:	2
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Familia <i>Euphorbiaceae</i>	3
2.2. Género <i>Euphorbia</i>	3
2.3. <i>Euphorbia lactea</i> Haw. (cardón).....	4
2.3.1. Ubicación taxonómica.....	4
2.3.2. Características botánicas.....	5
2.3.3. Usos y propiedades biológicas de las euforbiáceas	7
2.3.4. Propiedades fitoquímicas de las euforbiáceas.....	8
2.4. Uso de extractos vegetales en el control de plagas como alternativa a los productos químicos	11
2.4.1. Actividad antibacteriana, fungicida e insecticida de <i>Euphorbia</i> spp. 12	
3. MATERIALES Y MÉTODOS	20
3.1. Selección, identificación y caracterización del material vegetal	20
3.2. Preparación de los extractos.....	20
3.3. Análisis fitoquímico de los extractos	22
3.3.1. Análisis cualitativo de los metabolitos secundarios.....	22
3.3.2. Contenido de carbohidratos solubles totales	23
3.3.3. Cuantificación de azúcares reductores	24
3.3.4. Contenido de proteínas solubles totales	24
3.4. Ensayo de actividad antimicrobiana.....	24
3.5. Evaluación de la actividad molusquicida.....	25
3.7. Diseño experimental y análisis estadístico.....	26
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
4.1. Tamizaje fitoquímico. Metabolitos secundarios.....	27
4.2. Contenido de metabolitos primarios.....	30
4.2.1. Carbohidratos solubles totales y azúcares reductores.....	30
4.3. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de <i>E. lactea</i> Haw	32
4.4. Actividad molusquicida del látex de <i>E. lactea</i> Haw	36

4.5. Valoración económica-ambiental del uso de los extractos <i>Euphorbia lactea</i> Haw.	39
5. CONCLUSIONES	41
6. RECOMENDACIONES	42
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
8. ANEXOS.....	55

1. INTRODUCCIÓN

El reino vegetal constituye una fuente de compuestos químicos con diferentes principios bioactivos, útiles para el desarrollo de las industrias médico-farmacéutica, alimentaria y del sector agropecuario (Devi *et al.*, 2017). Numerosos investigadores se dedican al estudio fitoquímico de especies vegetales y de las actividades biológicas de los metabolitos secundarios, con el objetivo de resolver problemas actuales como la resistencia a antibióticos convencionales, que desarrollan numerosos microorganismos patógenos que afectan a humanos y animales (AinilFarhan *et al.*, 2013).

Los plaguicidas botánicos también están en el centro de atención de los investigadores agrícolas, ya que constituyen una alternativa más barata y amigable con el medioambiente, que los productos químicos tradicionales (Barrueta *et al.*, 2017). La literatura avala numerosas especies vegetales con potencialidades para el desarrollo de nuevos productos con actividades fungicidas y plaguicidas, que pueden contribuir a un mejor manejo de las plagas y a evitar las pérdidas económicas por afectaciones al rendimiento y a la calidad de los cultivos (Augusto *et al.*, 2015; Chauhan y Singh, 2015a; Pereira *et al.*, 2017).

Los moluscos están entre las plagas de mayor incidencia en las distintas modalidades productivas de la agricultura urbana, como los organopónicos, los huertos intensivos, las parcelas y los autoconsumos. Estos organismos producen defoliaciones especialmente en las hortalizas de hojas y su control representa un reto en la actualidad (Campanioni *et al.*, 1997).

El género *Euphorbia* (*Euphorbiaceae*) posee numerosas especies a las cuales se les atribuyen diversas propiedades como antimicrobiana, antiinflamatoria, anticancerígena, antiviral, antidiarreica y molusquicida (Ibraheim *et al.*, 2013; Samidurai y Nisha, 2014; Oso y Ogunnusi, 2017). Estas actividades están relacionadas con la presencia de varios metabolitos secundarios con diversas actividades biológicas como los alcaloides, los terpenos, los taninos y las saponinas, entre otros (Mali y Panchal, 2017).

Problema científico:

Se desconocen las propiedades fitoquímicas, antibacteriana y molusquicida de extractos de *Euphorbia lactea* Haw presentes en la flora matancera.

Hipótesis científica:

El estudio fitoquímico, microbiológico y molusquicida de extractos de *Euphorbia lactea* Haw presentes en la provincia de Matanzas, permitirá evaluar las propiedades que presenta esta especie para el control de enfermedades bacterianas de origen animal y moluscos plagas.

Objetivo general:

Evaluar las propiedades fitoquímicas, antibacteriana y molusquicida de extractos de *Euphorbia lactea* Haw presentes en la provincia de Matanzas.

Objetivos específicos:

- ✓ Caracterizar las propiedades fitoquímicas de extractos acuosos y etanólicos del tallo de *Euphorbia lactea* Haw.
- ✓ Determinar las propiedades antibacterianas de extractos de tallo de *Euphorbia lactea* Haw frente a cepas Gram negativas y Gram positivas.
- ✓ Determinar la actividad molusquicida del látex de *Euphorbia lactea* Haw.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Familia *Euphorbiaceae*

La familia *Euphorbiaceae* es una de las más amplias dentro de las llamadas plantas con flores. Está compuesta por más de 300 géneros y 2 000 especies (Nözbilgin y Saltan, 2012). Entre las especies de mayor importancia económica están *Ricinus communis* L. (aceite de castor), *Croton tiglium* L. (aceite de croton), *Manihot esculanta* Crantz (yuca), *Hevea brasiliensis* Willd. ex. A. Juss (árbol del corcho), *Euphorbia tetragonal*, *Euphorbia triangularis* (gomas inferiores) y *Euphorbia resinifera* (O. Berg) H. Karst (euforbión), entre otras (Singh y Geetanjali, 2015). Además, incluye varias especies tóxicas de *Euphorbia* que se utilizan en la farmacopea de numerosos países, para el tratamiento de varias enfermedades.

Las euforbiáceas poseen un tallo suculento y son propias de las sabanas y los semidesiertos africanos. Tienen un aspecto muy parecido al de ciertas cactáceas, con hojas reducidas a un par de estípulas transformadas en espinas. Las flores e inflorescencia son muy variadas, con perianto doble como los que se encuentran en la planta tropical oleífera *Jatropha curcas* L. y en muchas especies del género *Croton*. Las flores masculinas poseen un número elevado de estambres o solo uno, y las femeninas tienen el ovario bipartido o tripartido, con tres estaminodios (Botta *et al.*, 1990).

2.2. Género *Euphorbia*

El género *Euphorbia* L. es el más numeroso dentro de la familia con más de 2 000 especies (Serkan y Gulcin, 2012) y el tercero entre las plantas con flores (Pascal *et al.*, 2017). Se encuentra distribuido ampliamente en ambos hemisferios y abarca desde morfologías suculentas típicas de los desiertos, hasta árboles, lianas trepadoras y pequeñas herbáceas.

Presenta flores simplificadas, reunidas en una inflorescencia denominada “ciatio”, el cual consiste en una flor femenina apical desprovista de perianto, en la mayoría de las especies largamente pediceladas, rodeada por cinco grupos de flores masculinas también pediceladas y sin perianto. La inflorescencia en su

conjunto queda encerrada por cinco hipsófilos o brácteas, entre cada dos de éstas se inserta una glándula elíptica o semilunar con carácter de nectario. Los frutos son cápsulas denominadas tricoca, cuyas paredes se desprenden por completo de una columnita central y lanzan las semillas.

Algunas especies del género *Euphorbia* se utilizan desde la antigüedad como plantas medicinales para el tratamiento de enfermedades de la piel, migraña, parásitos intestinales y para eliminar las arrugas. Se utilizan diferentes partes como las raíces, las semillas, el látex, el tallo, la corteza y las hojas (Serkan y Gulcin, 2012).

Las propiedades curativas de las euforbiáceas se relacionan con la presencia de varias clases de metabolitos secundarios, entre los que se encuentran los constituyentes isoprenoides. Los diterpenos son abundantes dentro del género con diferentes estructuras esqueléticas. Además, se encuentran otros compuestos con distintos principios bioactivos como los sesquiterpenos, los flavonoides, los taninos y los esteroides (Jassbi, 2006; Shi *et al.*, 2008; Noori *et al.*, 2009). Los compuestos aislados como los extractos poseen diversas actividades biológicas como antimicrobiana (Valente *et al.*, 2004), antiinflamatoria (Fernandez-Arche *et al.*, 2010; Shih *et al.*, 2010), molusquicida (Shi *et al.*, 2008) anticancerígena (Sun y Liu, 2011; Wang *et al.*, 2012), antiviral, antidiarreica (Jassbi, 2006; Shi *et al.*, 2008) y antioxidante (Battu *et al.*, 2011).

2.3. *Euphorbia lactea* Haw. (cardón)

2.3.1. Ubicación taxonómica

Euphorbia lactea Haw. se clasifica de la manera siguiente (Strasburger *et al.*, 1971):

Reino: Plantae

División: Spermatophyta

Subdivisión: Magnoliophytina

Clase: Magnoliatae

Orden: Euphorbiales

Familia: Euphorbiaceae

Género: *Euphorbia*

Especie: *Euphorbia lactea* Haw.

2.3.2. Características botánicas

El cardón es un arbusto cactiforme, muy ramificado, de color verde oscuro, espinoso, con jugo lechoso y de 2 a 5 m de alto. Las ramas son triangulares, gruesas y carnosas, con las caras de 3 a 6 cm de ancho, plano-convexas y los ángulos dentados, comprimidos en el margen (Figura 1). Las espinas son cortas, gruesas, divergentes, de 4 a 6 mm de largo (Roig *et al.*, 1988). El cardón se propaga sexualmente por semillas o vegetativamente por fragmentos de tallo (PIER, 2016). Las hojas y las estípulas están representadas por espinas o diminutas brácteas caducas (Figura 2).



Figura 1. Planta de *Euphorbia lactea* Haw. Fuente: <https://www.biolib.cz/en/image/id54947/>



Figura 2. Hojas reducidas de *Euphorbia lactea* Haw. Fuente: <http://www.succulents.us/euphorbia.html>.

Las inflorescencias son cimas laterales o terminales, subsésiles, con pocas flores o con flores solitarias, los involucros están subtendidos por bracteolas dilatadas (Figura 3). Las glándulas del involucro son enteras y no apendiculadas. El fruto consiste en cápsulas gruesas y las semillas no presentan carúncula.



Figura 3. Flor de *Euphorbia lactea* Haw. Fuente: https://www.ecured.cu/Archivo:Flor_cardon.jpg

Euphorbia lactea Haw se comercializa ampliamente como planta ornamental y debido a la presencia de espinas se utiliza como barrera física en sembrados (USDA-ARS, 2016). La savia se utiliza en la India y en África para el tratamiento

de verrugas y en China en enfermedades de la piel. En la India también utilizan esta planta para tratar el reumatismo, para los dolores de muela e interiormente diluido como purgante en los casos de constipación fuerte. La corteza de la raíz es purgante y la resina tiene propiedades acres y narcóticas (Roig, 1988).

2.3.3. Usos y propiedades biológicas de las euforbiáceas

Las euforbiáceas son utilizadas como materia prima para la obtención de gomas, aceite de recino y tapioca (Hohmann y Molnar, 2004). Tradicionalmente estas plantas son empleadas como purgantes, analgésicos y antiinflamatorios, antipiréticos, antimicrobianos, antiparasitarios, en el tratamiento de la tos y el asma, para problemas de reumatismo, contra el cáncer y como remedios para otros malestares (Betancur-Galvis *et al.*, 2002; Ilyas *et al.*, 2003; Bigoniya *et al.*, 2010).

El látex de algunas especies de *Euphorbia* se utiliza en el tratamiento contra enfermedades de la piel, la gonorrea, la migraña, los parásitos intestinales y las verrugas (Singla y Pathak, 2009). El látex y sus componentes aislados presentan propiedades molusquicidas, pesticidas y citotóxicas (Ilyas *et al.*, 2003).

En la Tabla 1 se muestran algunos usos o propiedades de las euforbiáceas y las partes de la planta que son utilizadas.

Tabla 1. Propiedades y/o usos de algunas especies de *Euphorbia* spp.

Especie de <i>Euphorbia</i>	Parte de la planta utilizada	Uso terapéutico	Autores
<i>E. myrsinites</i> L.	Látex	Antelmíntico.	Polat y Satil (2012)
<i>E. armena</i> Prokh.	Látex	Saneamiento de heridas y constipación.	Altundağ y Öztürk (2011)
<i>E. coniosperma</i> Boiss.	Látex y partes aéreas	Saneamiento de heridas, mordidas de serpientes y escorpiones.	Sezik <i>et al.</i> (2001)

<i>E. macrorrhiza</i>	Parte aérea y raíces	Antibacteriana y antitumoral.	Jianbo <i>et al.</i> (2012)
<i>E. nerrifolia</i> L.	Hojas	Diurética, antiinflamatoria y anticancerígena.	Kumara <i>et al.</i> (2011)
<i>E. microsciadia</i> Boiss	Parte aérea	Antiinflamatoria, antitumoral, Inmunomoduladora, antiviral y contra parásitos intestinales.	Jassbi (2006); Salmasi <i>et al.</i> (2011); Ghanadian <i>et al.</i> (2012); Nouri <i>et al.</i> (2017)
<i>E. aphylla</i> Brouss ex Willd	Parte aérea	Antiinflamatoria, antipirética y antibacteriana.	Ibraheim <i>et al.</i> (2013)
<i>E. heterophylla</i> L.	Hojas	Tratamiento de infecciones del tracto respiratorio, de la piel y contra la malaria.	Okeniyi <i>et al.</i> (2012)
<i>E. tirucalli</i> L.	Hoja y corteza	Antioxidante y anticancerígeno.	Munro <i>et al.</i> (2015)
	Corteza y tallo	Fracturas óseas.	Mali y Panchal (2017)
	Tallo	Citotóxico.	Caxito <i>et al.</i> (2017)
<i>Euphorbia cooperi</i> N.E.Br.	Látex y parte aérea	Citotóxico.	El-sherei <i>et al.</i> (2015)

2.3.4. Propiedades fitoquímicas de las euforbiáceas

Las euforbiáceas fueron examinadas fitoquímicamente por numerosos autores. Entre los compuestos aislados se encuentran los alcaloides como imidazoles, pirimidinas, pirolidinas, piridinas, piperidinas, quinolizidinas, quinazolonas, isoquinolinas, morfinandienonas, índoles y guanidinas. Otro grupo importante son las sustancias terpenoides como sesquiterpenos, diterpenos y

triterpenos. Entre los compuestos flavonoides son particularmente abundantes las flavonas y los flavonoles. Estos metabolitos constituyen la familia más numerosa y se encuentran distribuidos en una amplia gama de *taxa* vegetales (Figura 4, Anexo 1) (Nözbilgin y Saltan, 2012).

Las cumarinas se observaron en relativamente pocas euforbiáceas y los lignanos solamente en los géneros *Jatropha* y *Phyllanthus*. Otros compuestos presentes en *Euphorbia* spp. son los taninos hidrosolubles, los fenantrenos, las quinonas, los compuestos polifenólicos, los alcoholes de ácidos grados de cadena larga e hidrocarburos y diferentes tipos de aminoácidos (Devi *et al.*, 2017; Mali y Panchal, 2017). Estas sustancias fueron aisladas del látex y de diferentes partes de la planta como la corteza, las flores, las hojas, las raíces y los tallos.

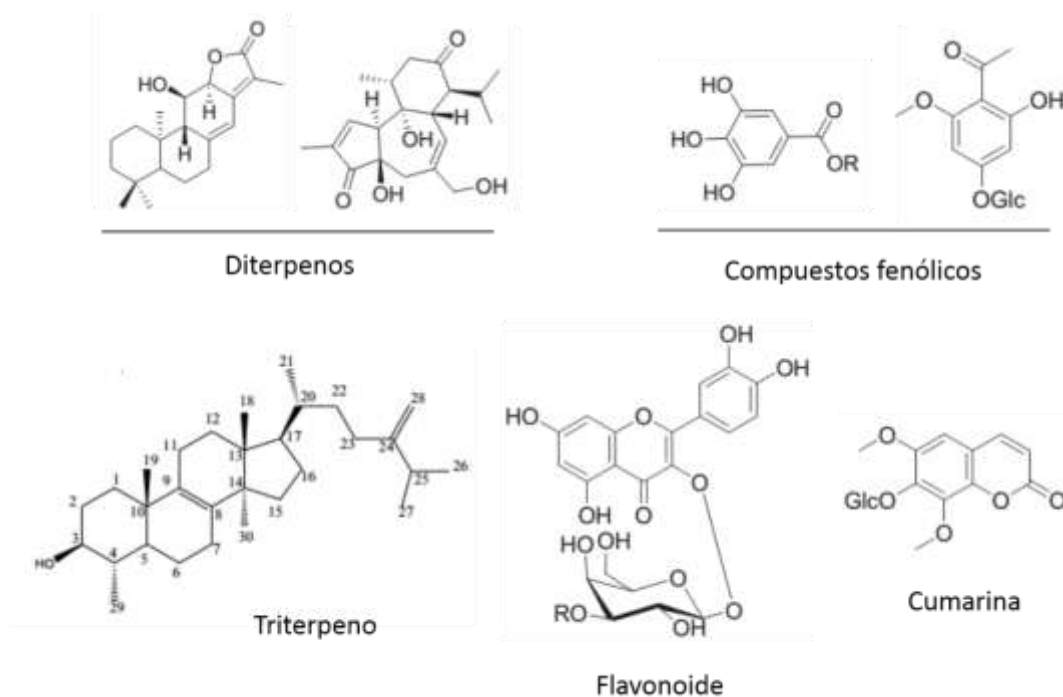


Figura 4. Estructura química de algunos compuestos químicos aislados de *Euphorbia* spp. Fuente: Da-Song *et al.* (2014) y El-sherei *et al.* (2015). La Tabla 2 muestra las principales familias de metabolitos secundarios observados en extractos de euforbiáceas.

Tabla 2. Principales grupos de metabolitos secundarios presentes en extractos de diferentes especies de euforbiáceas.

Espece	Parte de la planta	Metabolito	Autores
<i>Euphorbia nerrifolia</i> L.	Hoja	Flavonoides, flobataninos y taninos.	Kumara <i>et al.</i> (2011)
	Hoja	Flavonoides, flobataninos, saponinas, fenoles, terpenos, cardenólidos.	
<i>Euphorbia aphylla</i> Brouss ex Willd	Parte aérea	Fenoles, flavonoides, esteroides, taninos.	Ibraheim <i>et al.</i> (2013)
<i>Euphorbia heterophylla</i> L.	Hoja	Polifenoles y ácido ascórbico	Keerthana <i>et al.</i> (2014)
<i>Euphorbia lactea</i> Haw	Látex	Terpenos, alcaloides, taninos, saponinas, flavonoides.	Samidurai y Nisha (2014)
<i>Euphorbia tirucalli</i> L.	Parte aérea	Flavonoides, diterpenos, esteroides, alcaloides y taninos	Mali y Panchal, (2017)
<i>Euphorbia tithymaloidus</i>	Hoja	Esteroides, glucósidos cardiotónicos, flavonoides, polifenoles, taninos	Kumar <i>et al.</i> (2015)
<i>Euphorbia hirta</i> L.	Hoja y tallo	Esteroides, flavonoides, alcaloides, saponinas	Dhanapal <i>et al.</i> (2017)
	Planta completa	Saponinas, taninos, alcaloides, esteroides, terpenoides, fenoles.	Devi <i>et al.</i> (2017)
<i>Euphorbia thymifolia</i> L.	Planta completa	Fenoles, flavonoides, fenoles, saponinas, diterpenos.	Sisodiya y Shrivastava (2017)
<i>Euphorbia caducifolia</i> Haines	Parte aérea	Terpenoides, glucósidos, taninos, fenoles, flavonoides y saponinas	Venumadhav y Seshagirirao (2017)

Los constituyentes más importantes del látex de muchas especies de *Euphorbia* son los diterpenos y los triterpenos, principalmente en forma de ésteres. Estos compuestos le confieren propiedades irritantes y corrosivas, que puede provocar quemaduras dolorosas en la piel. La naturaleza tóxica de las euforbiáceas hace que muchos descarten los usos diferentes de estas plantas, a pesar de las múltiples potencialidades terapéuticas que presentan las mismas (Bigoniya *et al.*, 2010).

La composición del látex de *E. lactea* Haw. es muy diversa, con la presencia de compuestos tóxicos y de principios bioactivos como los diterpenos y los triterpenos (Ferrerira *et al.*, 2002). El látex de esta especie es venenoso y cáustico para los humanos, el ganado, los gatos, los perros y los animales salvajes. No debe ponerse en contacto con los ojos ya que puede causar ceguera, ni con orificios como la boca o las membranas mucosas ya que es muy irritante (PROTA, 2016). Sin embargo, los triterpenos pueden tener propiedades biológicas importantes. La evaluación la capacidad antiinflamatoria de un triterpeno tetracíclico aislado del látex de *E. lactea* Haw, mostró que la aplicación tópica del mismo suprimió con efectividad el oedema en la oreja de ratones (Fernandez-Arche *et al.*, 2010).

2.4. Uso de extractos vegetales en el control de plagas y enfermedades como alternativa a los productos químicos tradicionales

Para prevenir o suprimir las afectaciones por las plagas, se desarrollan diferentes innovaciones relacionadas con las prácticas agronómicas, el manejo de la diversidad florística, la aplicación de plaguicidas minerales y bioquímicos, el control biológico, el uso de las trampas rústicas de captura, entre otras (Vázquez *et al.*, 2005).

Existen diversos productos biológicos y técnicas alternativas para el control de plagas en los cultivos, pero su utilización aún se encuentra restringida por diversos factores; entre los cuales se destaca la escasa cultura de los agricultores con el uso de pesticidas botánico, por lo que utilizan casi exclusivamente pesticidas químicos, debido a la eficacia de estos productos (Bettiol, 2006).

El uso de extractos vegetales posee gran importancia en la actualidad para el control de plagas. Estos productos son aplicados como preventivos para contrarrestar el ataque de las plagas y tienen como ventaja que respetan el principio de la no perturbación de los agroecosistemas y las preparaciones no son costosas (Barrueta *et al.*, 2017). Por otra parte, el uso de estos biopreparados puede contribuir a disminuir el uso excesivo de agroquímicos y con ello reducir los gastos por importaciones de estos productos.

Las potencialidades que ofrece la naturaleza para el desarrollo de nuevos plaguicidas botánicos es enorme, si se considera el porcentaje bajo de especies que están estudiadas. En la actualidad existen diversas especies vegetales cuyos extractos acuosos presentan actividades insecticidas, lo cual constituye una opción para el agricultor ya que puede obtener el bioinsecticida con medios propios de forma artesanal (Ortega *et al.*, 2013, Peña *et al.*, 2013 y Martínez *et al.*, 2014).

2.4.1. Actividad antibacteriana, fungicida e insecticida de *Euphorbia* spp.

Numerosos trabajos avalan las potencialidades de este género como fuentes de agentes antibacterianos, fungicidas e insecticidas. Diferentes extractos de *E. fusiformis* mostraron actividades notables contra diferentes cepas patogénicas Gram positivas y Gram negativas (Natarajan *et al.*, 2005). El extracto metanólico fue el de mayor efectividad, seguido por el acetónico y el clorofórmico, mientras que los extractos acuosos y etanólicos mostraron bajas actividades. Las raíces evidenciaron los mejores resultados en comparación con las hojas. Los resultados de este estudio justificaron el uso de esta planta en la medicina tradicional para el tratamiento de fiebre, infecciones de heridas y desórdenes intestinales. De manera similar, los extractos etanólicos de las partes aéreas de *Euphorbia hirta* L. también evidenciaron un amplio espectro de actividades contra diferentes especies bacterianas (Sudhakar *et al.*, 2006).

El estudio fitoquímico y biológico de diferentes extractos de *Euphorbia aphylla* Brouss ex Willd, mostró diversas propiedades asociados a la presencia de metabolitos secundarios específicos. Entre los extractos evaluados (hexano, cloroformo y etanol), el último evidenció la mayor actividad inhibitoria contra las

bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) y Gram negativas (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*). El extracto etanólico fue el único que manifestó propiedades fungicidas contra *Geotrichum candidum* (Ibraheim *et al.* 2013).

La evaluación de las propiedades antibacteriana de extractos metanólicos de hojas de *Euphorbia heterophylla* L., frente a diferentes cepas evidenció una actividad alta contra *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella typhi*, la cual fue dependiente de la concentración. La dosis letal mínima para estos microorganismos fue 80 mg.mL⁻¹ (Oso y Ogunnusi, 2017). La actividad antibacteriana de *E. heterophylla* L. fue relacionada con la presencia de varios metabolitos secundarios presentes en sus hojas como fenoles, saponinas, taninos y flavonoides (Cushnie y Lamb, 2005; Ebana *et al.*, 2005). De manera similar, la actividad antibacteriana de los extractos de numerosas euforbiáceas fue relacionado con la presencia de varias clases de metabolitos secundarios como taninos, flavonoides, polifenoles y terpenos (Draughon, 2004).

Una investigación realizada sobre el conocimiento y empleo que se tenía en las diferentes unidades agrícolas en la provincia de Cienfuegos, Cuba, sobre las plantas fitoplaguicidas y/o repelentes en este territorio, mostró que en el municipio de Abreus los agricultores utilizaban *Euphorbia lactea* Haw para el control de plagas (Ortega *et al.*, 2008).

En estudios realizados por Barrueta *et al.* (2017) sobre el efecto insecticida de extractos acuosos de tallos de *Euphorbia lactea* Haw sobre *Plutella xylostella* L. en el cultivo de la col (*Brassica oleracea* L.); estos autores obtuvieron resultados promisorios en escala de laboratorio y en condiciones de campo, con una mortalidad superior al 60% según se considera para los extractos botánicos (Tarqui, 2007). Trabajos similares con esta especie evidenció un efecto insecticida similar contra *Diabrotica balteatal* Le Conte en condiciones semicontroladas (Roselló *et al.*, 2012).

Sobrino *et al.* (2016) obtuvieron una eficacia aproximada al 60% contra *P. xylostella* L. en *Brassica oleracea* L. con extractos de *Furcraea hexapetala*

(Jacq.). En otros trabajos relacionados, el extracto metanólico de raíces de *Euphorbia kansui* Sliou tuvo un efecto pesticida contra *Nilaparvatal ugens* Stal y *Tetranychus urticae* Koch, el cual fue relacionado con la presencia de dos diterpenos en el extracto (Dang *et al.*, 2010). Geng *et al.* (2011) observaron que la aplicación de diterpenos aislados de *Euphorbia fischeriana* Steud inhibió la actividad alimentaria de adultos de *Sitophilus zeamais* y *Tribolium castaneum*.

El látex de las euforbiáceas es de gran interés para el control de plagas. Los extractos con etilacetato realizados a partir de látex de *Euphorbia lactea* Haw, mostraron un efecto insecticida contra larvas de diferentes especies de mosquitos (*Anopheles stephensi* Liston, *Culex quinquefasciatus* Say y *Aedes aegypti* L.), con valores de DL₅₀ de 21,01, 25,65 y 49,69 mg/L, respectivamente. Por otra parte, el extracto no mostró nocividad contra depredadores naturales de estas larvas como *Notonecta* sp., *Nepa cincera*, *Dytiscus harrissiand* y *Lithocerus indicus*. El efecto letal se relacionó con la presencia de sesquiterpenoides tricíclicos (Samidurai y Nisha, 2014).

Los extractos de *E. heterophylla* L. preparados con etanol y n-hexano tuvieron un efecto insecticida contra *Macrosiphum rosae* (Hemiptera: Aphididae) y *Atta sexdens rubopilosa* L. (Hymenoptera: Formicidae). La comparación entre ambos extractos evidenció que frente a *M. rosae*, el n-hexano tuvo valores de mortalidad más elevados, mientras que frente a *A. sexdens rubopilosa* el extracto etanólico fue el más efectivo. Estos resultados evidencian que el efecto insecticida puede estar relacionado con metabolitos secundarios, que tienen diferentes estructuras químicas y grados de solubilización (Diniz *et al.*, 2014).

Azoui *et al.* (2016) observaron un efecto insecticida del látex de *Euphorbia bupleuroides* Kralik frente a *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae). Estos autores relacionaron este efecto con la toxicidad que presentan los ésteres diterpenos y triterpenos típicos del género *Euphorbia* (Vimal y Das, 2014). La Tabla 3 resume la actividad antibacteriana, fungicida e insecticida observada con extractos de diferentes euforbiáceas.

Tabla 3. Propiedades antibacterianas, fungicidas e insecticidas de extractos de euforbiáceas.

Actividad antibacteriana			
Especie	Extracto	Organismo	Autores
<i>E. macrorrhiza</i> L.	Parte aérea y raíces	<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> .	Jianbo <i>et al.</i> (2012)
<i>E. nerrifolia</i> L.	Hojas	<i>S. ureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella pneumonie</i> , <i>Proteus vulgaris</i> y <i>Pseudomonas fluorescens</i> .	Kumara <i>et al.</i> (2011)
<i>E. aphylla</i> Brouss ex Willd	Parte aérea (etanol)	<i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>S. ureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> y <i>Micrococcus luteus</i> .	Ibraheim <i>et al.</i> (2013)
<i>Euphorbia heterophylla</i> L.	Hojas (agua)	<i>S. ureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumonie</i> y <i>P. aeruginosa</i>	Okeniyi <i>et al.</i> (2012)
	Hojas (methanol)	<i>S. aureus</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> y <i>Salmonella typhi</i> .	Oso y Ogunnusi (2017)
Actividad fungicida			
<i>E. aphylla</i> Brouss ex Willd	Parte aérea (etanol)	<i>Geotrichum candidum</i>	Ibraheim <i>et al.</i> (2013)
<i>E. tirucalli</i> L.	Parte aérea (n-hexano)	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Candida albicans</i> y <i>Candida glabrata</i>	Rathi <i>et al.</i> (2012)
<i>Euphorbia cotinifolia</i> L.	Hoja, tallo, raíz y fruto	<i>Candida albicans</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ribeiro <i>et al.</i> , (2015)
<i>Euphorbia</i>	Hoja	<i>Candida albicans</i>	Ndam <i>et al.</i> (2016)

<i>golondrina</i> (L.C. Wheeler)			
Actividad insecticida			
<i>E. lactea</i> Haw	Tallo (acuoso)	<i>Plutella xylostella</i> L.	Barrueta <i>et al.</i> (2017)
	Látex (etilacetato)	Larvas de <i>Anopheles stephensi</i> , <i>Culex quinquefasciatus</i> y <i>Aedes aegypti</i> .	Samidurai y Nisha (2014)
<i>E. hirta</i> L. y <i>Jatropha curcas</i> L.	Tallo (etanólico)	Larvas de <i>Aedes aegypti</i> y <i>Aedes albopictus</i> .	Alvarez <i>et al.</i> (2016)
<i>E. hirta</i> L. y <i>E. tirucalli</i> L.	Látex (acuoso)	<i>Anopheles fenestus</i> y <i>Anopheles gambiae</i> .	Mwine <i>et al.</i> (2010)
<i>Jatropha gossypifolia</i> L.	Hoja (acuoso)	<i>Phlebotomus argentipes</i> (Diptera: Psychodidae).	Dinesh <i>et al.</i> (2015)
<i>E. heterophylla</i> L.	Parte aérea (etanólico)	<i>Macrosiphum rosae</i> (Hemiptera: Aphididae) y <i>Atta sexdens rubopilosa</i> (Hymenoptera: Formicidae).	Diniz <i>et al.</i> (2014)
<i>Croton urucurana</i> Baill	Corteza y hojas frescas (n-hexano, etilacetato y etanol)	<i>Callosobruchus maculatus</i> (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae).	dos Santos <i>et al.</i> (2016)
<i>Euphorbia bupleuroides</i> Kralik	Látex	<i>Blattella germanica</i> (Dictyoptera: Blattellidae).	Azoui <i>et al.</i> (2016)
<i>Euphorbia antiquorum</i> L.	Látex	<i>Aedes aegypti</i> .	Vimal y Das (2014)

2.4.2. Propiedades molusquicidas de extractos de *Euphorbia* spp.

Los biopreparados de especies vegetales con propiedades molusquicidas son de bajo costo, biodegradables y en general constituyen una alternativa segura en comparación con el uso de productos químicos convencionales como la niclosamida (Oliveira-Filho *et al.*, 2010). El número de especies de plantas que son tóxicas a los moluscos es elevada, especialmente entre los miembros de la familia *Euphorbiaceae*. En estudios realizados con extractos de *Euphorbia paralias* L. se observó un efecto molusquicida y antialimentario asociado a la presencia de diterpenoides (Moreira *et al.*, 2010).

Los extractos acuosos y purificados de látex de plantas de *E. pulcherrima* Willd. ex Klotzsch y *E. hirta* L., mostraron también un efecto molusquicida potente. Las dosis subletales (40 y 80% de LC₅₀) de extractos de ambas especies, afectaron significativamente los niveles de proteínas totales, aminoácidos libres totales, así como los ácidos nucleicos. Además, las actividades de las enzimas proteasas y fosfatasa alcalina y ácida, aumentaron en varios tejidos del caracol *Lymnaea acuminata*, en dependencia de la dosis y el tiempo de exposición (Shi *et al.*, 2008).

Los trabajos realizados por Baloch *et al.* (2009) sobre el efecto de diferentes extractos de raíces de *Euphorbia cornigera* sobre el gastrópodo de agua dulce *Biomphalaria glabrata* (un intermediario de *Schistosoma mansoni*), evidenciaron un efecto molusquicida elevado relacionado con la presencia de varios diterpenos poliésteres. Estos autores evaluaron posteriormente el efecto de ocho derivados del forbol de *Euphorbia cauducifolia* Haines contra *B. glabrata*. Dos de estos compuestos tuvieron una actividad superior o similar a los controles bailuscida y niclosamida. El efecto de estas sustancias se relacionó con una inestabilidad osmótica y la vesiculación superficial que provocó la muerte de los animales.

En trabajos similares se observó un efecto tóxico de extractos de corteza de *Euphorbia tirucalli* L. sobre los gastrópodos dañinos *Lymnaea acuminata* e *Indoplanorbis exustus*. Las dosis subletales fueron suficientes para alterar algunos indicadores bioquímicos en los animales, con una reducción en el

contenido de contenido de ácidos nucleicos, glucógeno y proteínas solubles totales, mientras que hubo un aumento en el contenido de aminoácidos y la actividad proteolítica (Chauhan y Singh, 2015).

Entre los metabolitos secundarios sintetizados por las plantas las saponinas están entre las de mayor interés para el sector agropecuario, ya que tienen diversas actividades biológicas como molusquicida (Pereira *et al.*, 2015). Estos compuestos tienen una estructura anfipática formada por un residuo de azúcar hidrofílico unido a una aglicona hidrofóbica.

En general, estos metabolitos tienen la capacidad de interactuar con los esteroides presentes en las membranas biológicas. Esto provoca cambios estructurales importantes que aumentan la solubilidad de la misma y la pérdida de los componentes celulares. Este efecto es el principio de la actividad hemolítica que presentan muchas saponinas (Karabaliev y Kochev, 2003).

De manera general, las sustancias molusquicidas ocasionan problemas en el balance osmótico de los moluscos, lo cual está bajo el control neurohormonal. Consecuentemente, dos mecanismos explican la muerte de los animales: la masa cefalopodal se retrae dentro de la concha con la subsecuente liberación de la hemolinfa, o la masa cefalopodal se proyecta fuera de la concha de una manera inusual (McCullough *et al.*, 1980).

Se considera que un producto tiene actividad molusquicida si presenta una DL90 (dosis que provoca la letalidad del 90% de los individuos) o DL100, inferior a los 100 mg.L⁻¹ (WHO, 1983).

En la Tabla 4 se muestran algunos resultados importantes donde se obtuvo una actividad molusquicida con diferentes especies de euforbiáceas.

Tabla 4. Propiedades molusquicidas de extractos de euforbiáceas.

Espece vegetal	Parte de la planta	Espece animal	Autores
<i>E. tirucalli</i> L.	Corteza del tallo	<i>Lymnaea acuminata</i> y <i>Indoplanorbis exustus</i>	Chauhan, S. and Singh, A. 2011a
	Corteza del tallo	<i>L. acuminata</i> y <i>Indoplanorbis exustus</i>	Chauhan y Singh (2015)
<i>E. hirta</i> L.	Látex	<i>Lymnaea acuminata</i> y <i>Indoplanorbis exustus</i>	Yadav y Singh (2011)
<i>Euphorbia milii</i> (Bojer ex Hook)	Látex	<i>Biomphalaria glabrata</i>	Augusto et al. (2015)
<i>Jatropha gossypifolia</i> L.	Tallo, hojas y frutos	<i>Biomphalaria glabrata</i>	Pereira et al. (2015)
<i>Euphorbia umbellata</i> (Pax)	Látex	<i>Biomphalaria glabrata</i>	Pereira et al. (2017)

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en los laboratorios pertenecientes al Centro de Estudios Biotecnológicos (CEBIO) de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Matanzas, Cuba. La misma se dividió en tres etapas fundamentales:

- Etapa 1. Colecta y ubicación taxonómica del material vegetal.
- Etapa 2. Preparación de los extractos vegetales.
- Etapa 3. Evaluación de las propiedades fitoquímicas, antibacteriana y molusquicida de los extractos vegetales.

3.1. Selección, identificación y caracterización del material vegetal

Se seleccionaron ejemplares adultos de *Euphorbia lactea* Haw. presentes en las áreas del Jardín Botánico de Matanzas, ubicado en el campus de la Universidad de Matanzas. Se tomaron plantas que no presentaban afectaciones por plagas o daños mecánicos. La colecta de las muestras se efectuó en marzo de 2018 entre 8:00 y 9:00 am. La ubicación taxonómica de la planta utilizada se realizó por especialistas del Jardín Botánico de Matanzas, a partir del análisis de los caracteres morfológicos *in situ* y el herbario digital del Jardín Botánico de Nueva York disponible en internet.

3.2. Preparación de los extractos

La Figura 5 muestra el esquema general de trabajo para las etapas 2 y 3. A continuación se describe el procedimiento de las mismas.

Los tallos colectados fueron lavados con agua destilada para eliminar el polvo. Posteriormente se fraccionaron en fragmentos pequeños y se secaron en una estufa (Boxun) a 45°C. Los tallos secos se pulverizaron con el empleo de un molino eléctrico hasta obtener partículas entre 0,1 y 0,5 mm (Niranjan *et al.*, 2013).

Se mezclaron 5 g de polvo con 100 mL de cada solvente (etanol 90% y agua) en erlenmeyers de 250 mL con tapones de algodón, y se colocaron en agitación sobre una zaranda orbital (HDL® APPARATTUS) a 160 rpm por 24 h (Figura 6).

Los extractos fueron filtrados en doble capa de papel de filtro, se colectaron y conservaron en frascos ámbar a 4°C para el estudio de los metabolitos secundarios.



Figura 5. Esquema general de trabajo. Fuente: Miguel Carrasco Álvarez.



Figura 6. Frascos con extractos de *Euphorbia lactea* Haw para la realización del tamizaje fitoquímico. Fuente: Miguel Carrasco Álvarez.

3.3. Análisis fitoquímico de los extractos

3.3.1. Análisis cualitativo de los metabolitos secundarios

La determinación de los metabolitos secundarios se realizó a través de la metodología descrita por Chigodi *et al.* (2013). Se evaluó la presencia de flavonoides, terpenoides, antocianinas, taninos, antraquinonas, glucósidos cardiotónicos, antocianinas, flobataninos, esteroides, cumarinas y emodinas.

Flavonoides: se adicionó un mililitro de hidróxido de sodio ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) a 1 mL de extracto y posteriormente se agregó igual volumen de ácido clorhídrico (HCl) $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. La presencia de un color amarillo en la disolución indicó la presencia de flavonoides.

Terpenoides: se mezcló un mililitro de extracto con 1 mL de cloroformo (CHCl_3) y a continuación se adicionaron 2 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado. La coloración rojo-parda en la interfase indicó la presencia de terpenoides.

Antocianinas: se mezcló un mililitro de extracto con 3 mL de agua destilada y posteriormente se adicionó 1 mL de HCl 2 mol.L^{-1} y disolución amoniacal $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ a 1 mL de la mezcla anterior. La presencia de un color rosado-rojo que se torna azul-violeta indicó la presencia de antocianinas.

Taninos: se mezcló un mililitro de cada extracto con 2 mL de agua destilada y la mezcla se calentó en un baño termostático. Posteriormente se filtró con papel de filtro y al sobrenadante se le adicionaron dos gotas de disolución de cloruro férrico al 1% en metanol. La presencia de taninos se identificó mediante la formación de un color verde oscuro en la solución.

Antraquinonas: se mezclaron dos mililitros de cada extracto con 3 mL de HCl al 10% y la mezcla se calentó a 100°C durante 3 minutos en baño termostático. Posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente. Seguidamente se adicionó igual volumen de CHCl_3 al filtrado y a continuación unas gotas de disolución de amonio al 10% y se volvió a calentar la mezcla. La formación de una coloración rosada indicó la presencia de antraquinonas.

Glucósidos cardiotónicos: se mezclaron dos mililitros de cada extracto con 2 mL de ácido glacial acético que contenía una gota de disolución de cloruro férrico al 1%. A la mezcla se adicionó cuidadosamente 1 mL de H₂SO₄ concentrado por las paredes del tubo de ensayo. La presencia de desoxiazúcares característicos de los compuestos cardiotónicos, se observó por la formación de un anillo pardo en la interfase junto a un anillo púrpura por debajo.

Saponinas: se mezcló un mililitro de cada extracto con 3 mL de agua destilada, se agitó vigorosamente y posteriormente la mezcla se calentó a 100°C. La formación de espuma o una mezcla cremosa con pequeñas burbujas mostró la presencia de saponinas.

Flobataninos: se mezcló un mililitro de cada extracto con una disolución de HCl al 2% y se calentó a 100°C. La presencia de flobataninos se determinó por la formación de un precipitado rojo.

Esteroides: se mezcló un mililitro de cada extracto con 3 mL de CHCl₃ y luego se agitó la mezcla. Posteriormente se adicionaron cuidadosamente 2 mL de H₂SO₄ concentrado por los lados del tubo de ensayo. La formación de un color rojo en la capa superior y una coloración verde fluorescente en la capa de H₂SO₄ indicó la presencia de esteroides en el extracto.

Cumarinas: se mezcló un mililitro de cada extracto con 1 mL de NaOH al 10%. La formación de una coloración amarilla indicó la presencia de cumarinas en la muestra.

El contenido de los metabolitos se determinó de manera cualitativa a través del sistema no paramétrico de cruces (MINSAP, 1997):

Contenido: (+++ = alto, ++ = moderado, + = bajo, - = ausencia).

3.3.2. Contenido de carbohidratos solubles totales

El contenido de carbohidratos en las muestras se determinó colorimétricamente mediante el método del fenol-sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956),

con el uso de la D-glucosa como azúcar patrón. Las muestras fueron leídas a una absorbancia de 490 nm y las concentraciones expresadas en mg.mL⁻¹ a partir de la curva patrón.

3.3.3. Cuantificación de azúcares reductores

El contenido de azúcares reductores se determinó por el método del ácido dinitrosalisílico y se empleó la D-glucosa (Sigma) como azúcar patrón (Miller, 1959). La absorbancia se midió a una longitud de onda de 456 nm.

3.3.4. Contenido de proteínas solubles totales

El contenido proteico se determinó colorimétricamente mediante el método descrito por Lowry *et al.* (1951), con el uso de albúmina de suero bovino (BSA) como patrón. Los valores de absorbancia se obtuvieron a 750 nm y las concentraciones (mg.mL⁻¹) se determinaron mediante la curva patrón.

3.4. Ensayo de actividad antimicrobiana

La actividad antibacteriana se realizó con el extracto etanólico, el cual se preparó como se describe a continuación. Se mezclaron 100 g del polvo fresco con 0,5 L de etanol (90%) en un frasco ámbar de 1 L. La mezcla se colocó en agitación durante 24 horas y posteriormente se filtró con doble capa de papel de filtro. El sobrenadante se colectó y almacenó en frascos ámbar. Se adicionaron nuevamente 0,5 L de etanol (90%) al residuo sólido para una segunda extracción y el frasco se colocó nuevamente en agitación durante otras 24 h. El extracto se filtró de manera similar y se adicionó a la fracción anterior. Posteriormente se concentraron en una estufa a 40°C hasta obtener un producto deshidratado.

La actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos se evaluó frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Gram +), *Escherichia coli* ATCC 25922 (Gram -) y *Proteus* sp. (Gram -). Se utilizó el método de difusión en pocillos para la realización del ensayo (Pérez *et al.*, 1990).

Las cepas bacterianas fueron rejuvenecidas previamente sobre medio Agar Cerebro de Corazón a 37°C. Se inoculó el medio Agar Mueller- Hinton con células de turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de Mc Farland con el uso

de un hisopo estéril. Los pocillos se realizaron con la ayuda de un orador estéril de 8 mm de diámetro y se les adicionaron 100 μL (200 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) de cada extracto. Las placas fueron incubadas toda la noche a 37°C.

Se empleó como control negativo la disolución hidroalcohólica y como controles positivos los antibióticos Amikacina (30 μg) para las bacterias Gram negativas y Cefalexina (30 μg) para la cepa Gram positiva de *S. aureus*. La actividad antibacteriana se obtuvo a partir del diámetro de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano. Se realizaron tres réplicas por cada experimento (Parekh y Chanda, 2006).

3.5. Evaluación de la actividad molusquicida

Se colectaron caracolillos plagas presentes en el área de aclimatización del Centro de Estudios Biotecnológicos, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Matanzas. Los mismos fueron clasificados por especialista de esta institución y correspondieron a la especie *Zachrysis* sp. Se determinó el efecto molusquicida del látex de *Euphorbia lactea* Haw. Para ello se colectó látex fresco del tallo y se prepararon las diluciones 1/50, 1/100, 1/200 y 1/400, en el momento de realizar el experimento.

La colecta de los moluscos se realizó temprano en la mañana (8:00 – 8:30 am). El experimento se realizó mediante la metodología de la WHO (1965). Se colocaron cinco gastrópodos por cada placa Petri (10 cm de diámetro) y se suministró como alimento hojas frescas de frijol. En cada placa se colocaron dos capas de papel de filtro humedecido con agua y los moluscos se mantuvieron en estas condiciones durante tres días para su aclimatación. Las placas Petri fueron lavadas diariamente y se cambió el papel de filtro humedecido, así como el alimento. Se realizaron cuatro réplicas (placas) por tratamientos (control y diferentes diluciones de los extractos). Como control se empleó agua destilada y los tratamientos se correspondieron con las diferentes diluciones preparadas.

Se asperjaron 5 mL de extracto sobre toda la superficie de la placa Petri, de forma que toda el área se humedeció (alimento y superficie de los animales). Se realizó una sola aplicación y se midió la mortalidad (%) a las 24 horas.

3.7. Diseño experimental y análisis estadístico

La determinación cualitativa de los metabolitos secundarios se realizó por triplicado, al igual que las lecturas de absorbancia para las cuantificaciones de carbohidratos solubles totales, azúcares reductores y proteínas solubles totales.

Los datos fueron procesados con el paquete estadístico Statgraphic plus 5.1 sobre Windows. Se determinó el ajuste a una Distribución Normal mediante la prueba de Bondad de Ajuste Kolmogorov-Smirnov y la Homogeneidad de Varianza mediante las Pruebas de Bartlett (Sigarroat, 1985). En los casos en que los datos cumplieron los requisitos exigidos se procesaron mediante ANOVA de clasificación simple y para la comparación de medias se utilizó la Prueba de Rangos Múltiples de Tukey HSD. Para los datos que no cumplieron con estas premisas se realizó la Prueba de Kruskal-Wallis y la Prueba de Rangos Múltiples de Student-Newman-Kwels (SNK) para la comparación de medias entre tratamientos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Tamizaje fitoquímico. Metabolitos secundarios

Los extractos acuosos y etanólicos de tallos de *Euphorbia lactea* Haw. mostraron la presencia de terpenos y flavonoides. Los compuestos terpenoides estuvieron mejores representados con cantidades abundantes en el extracto etanólico. De manera general, el etanol fue mejor solvente que el agua para la extracción de ambas clases de metabolitos, lo cual puede estar asociado con la diferencia en polaridad de los solventes utilizados. Por el contrario no se observaron antocianinas en ninguno de los extractos (Tabla 5).

Tabla 5. Contenidos relativos de flavonoides, terpenos y antocianinas en extractos acuosos y etanólicos de tallos de *Euphorbia lactea* Haw.

Metabolitos secundario	Extractos	
	Acuoso	Etanólico
Flavonoides	+	++
Terpenos	++	+++
Antocianinas	-	-

Contenido: +++ = abundante, ++ = moderada, + = bajo, - = ausencia.

Los resultados obtenidos coinciden con otros estudios fitoquímicos realizados en *Euphorbia lactea* Haw. (Samidurai y Nisha, 2014) y otras especies dentro del género como *E. antiquorum* (Vimal y Das, 2014), *E. tirucalli* L. (Mali y Panchal, 2017) y *E. thymifolia* L. (Sisodiya y Shrivastava, 2017). En un estudio realizado con extractos metanólicos de *Euphorbia tirucalli* L. se obtuvieron valores elevados de flavonoides, los cuales fueron relacionados con la actividad antioxidante del extracto (Munro *et al.*, 2015).

Los flavonoides y los terpenos detectados en los extractos de *E. lactea* Haw sugieren la presencia de propiedades antioxidante y antiinflamatoria en esta especie, como fue referido por otros autores en estudios con otras euforbiáceas (Pracheta *et al.*, 2011; Pascal *et al.*, 2017). En trabajos con *E. kansui* y *E. heyneana* se observó un efecto antiinflamatorio fuerte en ratones, el cual se asoció a la presencia de triterpenos (Yasukawa *et al.*, 2000, Battu *et al.*, 2011).

La abundancia de compuestos terpenoides en extractos de *Euphorbia lactea* Haw. tienen un potencial elevado como fuente para la obtención de sustancias bioactivas con propiedades antimicrobianas, antioxidante, antiprotozoaria, antiinflamatoria y antitumoral (Fei *et al.*, 2013; Sharifi *et al.*, 2013). Estudios realizados por Fernandez-Arche *et al.* (2010) con extractos de *E. lactea* Haw. refirió una actividad antiinflamatoria asociada a la presencia de triterpenos en la disolución.

En investigaciones similares realizadas con látex de *Euphorbia nivulia* Buch-Lam (Shi *et al.*, 2008) y *Euphorbia poisonii* (Fatope *et al.*, 1996), se demostró la presencia de actividades anticancerígenas potentes frente a líneas celulares de Colo205, MT2, CEM y de carcinoma de riñón humano (A-498), respectivamente. Esta actividad fue asociada con la presencia de compuestos diterpenoides. De manera similar, varios autores relacionaron las propiedades antioxidantes de los compuestos flavonoides con la actividad anticancerígena (Wani *et al.*, 2013; Munro *et al.*, 2015).

La evaluación cualitativa de esteroides, taninos y saponinas en extractos acuosos y etanólicos de tallos de *Euphorbia lactea* Haw se muestran en la Tabla 6. Se observaron contenidos cualitativos de esteroides y taninos similares en ambos extractos. En el caso de las saponinas se evidenciaron mayores proporciones en el extracto etanólico (moderada) con relación al acuoso (baja).

Tabla 6. Contenidos relativos de esteroides, taninos y saponinas en extractos acuosos y etanólicos de tallos de *Euphorbia lactea* Haw.

Metabolitos secundario	Extractos	
	Acuoso	Etanólico
Esteroides	+	+
Taninos	+	+
Saponinas	+	++

Contenido: +++ = abundante, ++ = moderada, + = bajo, - = ausencia.

Los resultados fueron similares a los obtenidos en *Euphorbia thymifolia* (Sisodiya y Shrivastava, 2017), *E. tithymaloidus* (Kumar *et al.*, 2015), *E. hirta* L. (Devi *et al.*, 2017) y *E. caducifolia* Haines (Venumadhau y Seshagirirao, 2017).

La presencia de saponinas, taninos y esteroides en el extracto de *Euphorbia lactea* Haw. sugiere diferentes principios activos de gran importancia en el sector agropecuario. Las saponinas y los taninos fueron descritos como buenos agentes antimicrobianos frente a numerosas bacterias que afectan a humanos y animales de interés zootécnico, así como otras actividades biológicas como antiinflamatorios y anticancerígenos (Khade *et al.*, 2011).

Estudios con varias saponinas mostraron actividades antiparasitarios eficaces frente a *Fasciola hepatica*, *Trichomonas vaginalis* y *Tripanosoma cruzi*. Por otra parte, las saponinas esteroidales y triterpénicas se caracterizan por presentar propiedades surfactantes, por lo cual se consideran agentes quelantes de numerosos metales pesados como arsénico, cromo, cadmio, cobre, plomo y zinc, por lo cual tienen un uso potencial en la biorremediación (Gonzalez-Valdez *et al.*, 2013).

La evaluación cualitativa de cumarinas, glucósido cardiotónicos y flobataninos en extractos acuosos y etanólicos de tallos de *Euphorbia lactea* Haw., mostró la presencia de glucósidos cardiotónicos en ambos extractos (Tabla 7). Los mayores contenidos se obtuvieron con etanol como solvente (moderado), en comparación con el extracto acuoso donde se obtuvieron en bajas proporciones.

Tabla 7. Contenidos relativos de cumarinas, glucósido cardiotónicos y flobataninos en extractos acuosos y etanólicos de tallos de *Euphorbia lactea* Haw.

Metabolitos secundario	Extractos	
	Acuoso	Etanólico
Cumarinas	-	-
Gluc. Cardiotónicos	+	++
Flobataninos	-	-

Contenido: +++ = abundante, ++ = moderada, + = bajo, - = ausencia.

Estos resultados concuerdan con los referidos por otros autores en diferentes especies de euforbiáceas, quienes observaron la presencia de glucósidos cardiotónicos en *Euphorbia tithymaloidus* (Kumar *et al.*, 2015) y

Euphorbia caducifolia Haines (Venumadhav y Seshagirirao, 2017). También en correspondencia con los resultados de la presente investigación, estos investigadores tampoco observaron cumarinas ni flobataninos, lo cual puede estar relacionado con el genotipo y/o diferentes factores ambientales.

4.2. Contenido de metabolitos primarios

4.2.1. Carbohidratos solubles totales y azúcares reductores

Las Figuras 7 y 8 muestran el contenido de carbohidratos solubles totales y azúcares reductores en tallos de *Euphorbia lactea* Haw. Con relación a la concentración de carbohidratos totales, los mayores valores se obtuvieron con el extracto etanólico ($6,62 \text{ mg.mL}^{-1}$) en comparación con el acuoso ($2,05 \text{ mg.mL}^{-1}$). De manera similar, los azúcares reductores se obtuvieron en mayor concentración en el extracto etanólico ($4,52 \text{ mg.mL}^{-1}$).

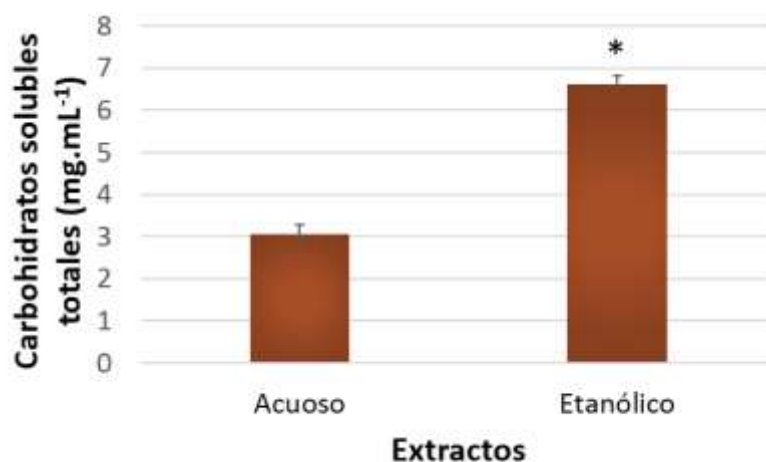


Figura 7. Contenido de carbohidratos solubles totales en tallos de reciente cosecha y almacenado durante seis meses de *Euphorbia lactea* Haw. * Diferencias significativas según Prueba de Student-Newman-Keuls ($P \leq 0,05$).

La presencia de carbohidratos coincide con los resultados obtenidos por diferentes autores en distintas euforbiáceas como *E. heterophylla* L. (Keerthana *et al.*, 2014), *E. helioscopia* L. (Saleem *et al.*, 2014), *E. hirta* L. (Devi *et al.*, 2017) y *E. caducifolia* (Venumadhav y Seshagirirao, 2017).

Los azúcares tienen una función importante en las plantas ya que son energéticos por excelencia y por tanto, participan directamente en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Por otra parte, durante el metabolismo de estos compuestos se producen también otras sustancias esenciales como las sustancias antioxidantes (carotenoides y ácido ascórbico) y los aminoácidos cisteína, glicina y glutamato, los cuales constituyen esqueletos carbonados para la síntesis del compuesto antioxidante glutatión (Tesfay *et al.*, 2010).

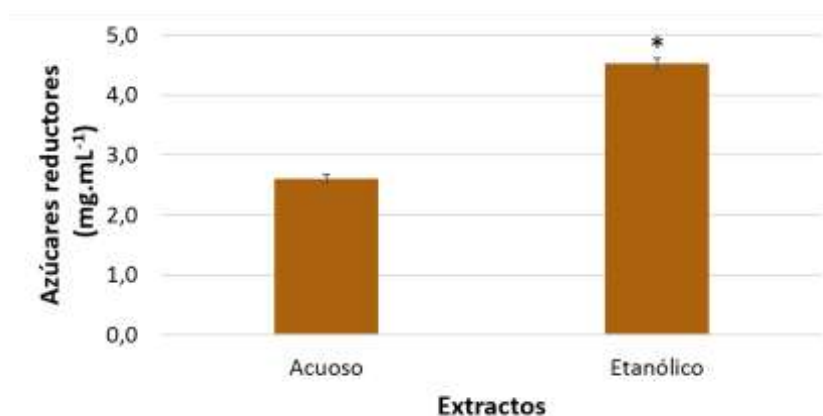


Figura 8. Contenido de azúcares reductores en tallos de reciente cosecha y almacenado durante seis meses de *Euphorbia lactea* Haw. * Diferencias significativas según Prueba de Student-Newman-Keuls ($P \leq 0,05$).

Las sustancias antioxidantes tienen funciones importantes en las plantas y en todos los organismos vivos, ya que eliminan las especies reactivas del oxígeno, que se generan durante el funcionamiento de la cadena de transporte electrónico a nivel mitocondrial y en los cloroplastos en la fase lumínica de la fotosíntesis. Estos radicales pueden participar en la señalización celular, pero en altas concentraciones provocan el estado de estrés oxidativo que afecta la fisiología de las células y del organismo en general.

La cuantificación de azúcares reductores en los extractos estudiados también es importante, ya que estas sustancias interfieren en la extracción de saponinas, las cuales son de gran interés para la industria farmacéutica (Guerra *et al.*, 2001).

El contenido de proteínas solubles totales evidenció una mayor concentración de estos metabolitos primarios en el extracto acuoso ($2,80 \text{ mg.mL}^{-1}$) en comparación con el extracto etanólico ($0,87 \text{ mg.mL}^{-1}$) (Figura 8).

La presencia de proteínas también se observó en otras especies del género como *Euphorbia tithymaloidus* L. (Kumar *et al.*, 2015), *Euphorbia heterophylla* L. (Keerthana *et al.*, 2014), *Euphorbia helioscopia* L. (Saleem *et al.*, 2014) y *Euphorbia hirta* L. (Devi *et al.*, 2017; Dhanapal *et al.*, 2017). Estas macromoléculas tienen funciones vitales en las células y en los organismos, ya que controlan todos los procesos metabólicos. Además varias enzimas tienen una función importante en la actividad biológica que muestran algunos extractos como antibacteriana (Kausar *et al.*, 2016).

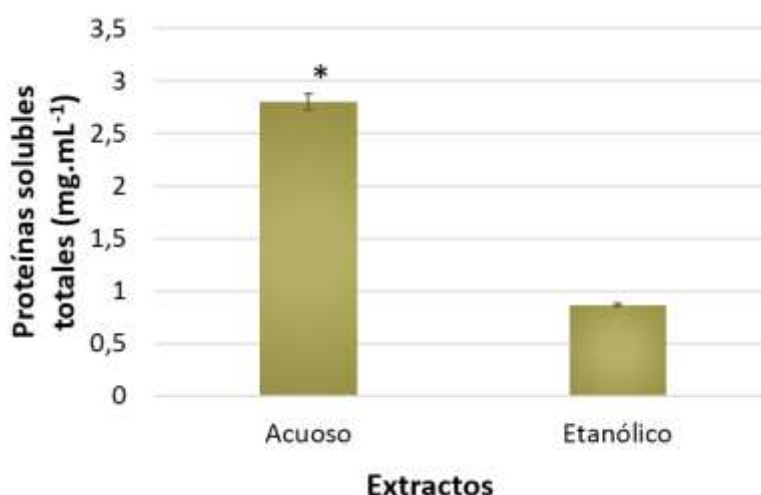


Figura 9. Contenido de proteínas solubles totales en tallos de reciente cosecha y almacenado durante seis meses de *Euphorbia lactea* Haw. * Diferencias significativas según Prueba de Student-Newman-Keuls ($P \leq 0,05$).

4.3. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *E. lactea* Haw

La Tabla 9 y la Figura 10 muestran los resultados de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de tallo de *Euphorbia lactea* Haw. Como se puede observar los valores más altos de inhibición se obtuvieron frente a *Proteus* sp., donde no se observaron diferencias entre el control positivo y el extracto.

En el caso de *Staphylococcus aureus*, también se obtuvo una actividad inhibitoria elevada (16,7 mm) aunque inferior al antibiótico Amikacina (control positivo). Los menores halos de inhibición del extracto vegetal se obtuvieron frente a *Escherichia coli* (7,0 mm).

Los resultados obtenidos coinciden con otros autores que refirieron una actividad antibacteriana de extractos de *E. neriiifolia* Roxb (Kumara *et al.*, 2011) y de *E. hirta* L. frente a *S. ureus* (Enerva *et al.*, 2015), *E. coli* y *S. aureus* (Pandey y Verma, 2013).

Tabla 8. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de tallo de *Euphorbia lactea* L. frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus* sp.

Extractos	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	DZI (mm)	± EE	DZI (mm)	± EE
Amikacina (control +)	23,3 ^a	0,33	-	-
Cefalexina (control +)	-	-	16,3 ^a	0,66
Disolución hidroalcohólica	1,1 ^c	0,33	0,00 ^c	0,00
Extracto <i>E. lactea</i> Haw.	16,7 ^b	1,33	7,0 ^b	0,57

Extractos	<i>Proteus</i> sp.	
	DZI (mm)	± EE
Amikazina (control +)	-	-
Cefalexina (control +)	14,30 ^a	1,20
Disolución hidroalcohólica	0,00 ^b	0,00
Extracto <i>E. lactea</i> Haw.	15,6 ^a	0,60

DZI: diámetro de la zona de inhibición. Los datos representan medias de tres réplicas. Letras diferentes indican diferencia significativa según Test de Tukey (P≤0,05).

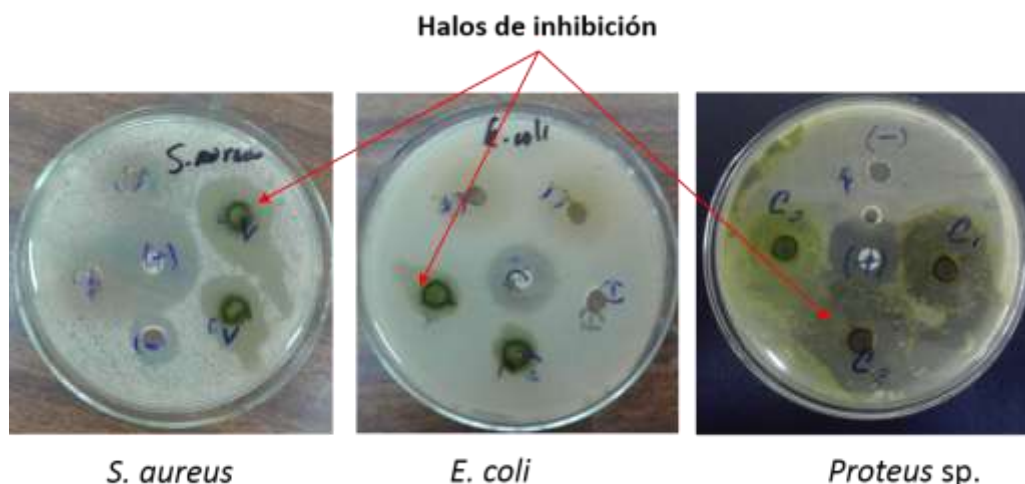


Figura 10. Actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de tallos de *Euphorbia lactea* Haw. frente a *S. aureus*, *E. coli* y *Proteus sp.*

Los resultados obtenidos concuerdan con lo referido por algunos autores quienes plantearon una mejor respuesta frente a bacterias Gram positivas que frente a Gram negativas (Nelofar *et al.*, 2006). En el presente estudio se evidenció este hecho al comparar los resultados frente a *S. aureus* y *E. coli*; lo cual puede estar relacionado con la complejidad de las paredes celulares de estos grupos bacterianos. Las bacterias Gram negativas presentan una mayor complejidad que las Gram positivas, ya que las primeras poseen además de la capa de peptidoglicano, una capa de lipopolisacáridos que puede constituir un obstáculo para la entrada de metabolitos secundarios hidrosolubles hacia el interior de la célula, los cuales son responsables de la acción antibacteriana (Madigan *et al.*, 2015). Por el contrario, también se observó en la presente investigación una mejor respuesta frente a *Proteus sp.* que frente a *S. aureus*, lo que puede estar asociado a diferentes sensibilidades de los microorganismos a los componentes del extracto.

Una respuesta similar se obtuvo por Ribeiro *et al.* (2015) con extractos frescos y secos de hojas de *Euphorbia cotinifolia*. Estos autores observaron una mayor inhibición frente a *Proteus mirabilis* (13 mm), seguido de *S. aureus* (10 mm) y por último no hubo actividad antibacteriana frente a *E. coli*.

La actividad antibacteriana puede estar relacionada con la presencia de diversos metabolitos secundarios como taninos, flavonoides, alcaloides, glucósidos, esteroides, terpenos y saponinas presentes en el extracto (Draughon, 2004; Kausar *et al.*, 2016). Trabajos realizados por Okeniyi *et al.* (2012) con *Euphorbia heterophylla* L., asociaron la actividad antibacteriana de extractos acuosos de hojas en esta especie con la presencia de saponinas, taninos y alcaloides detectados en los mismos. Dichos compuestos fueron previamente relacionados con propiedades antibacterianas por Nandi *et al.* (2004).

De manera general, los metabolitos secundarios observados en el extracto de *Euphorbia lactea* Haw. pueden actuar de manera individual o sinérgicamente mediante diversos mecanismos, que incluyen alteraciones en las propiedades físico-químicas de la membrana celular y el bloqueo de diferentes procesos metabólicos vitales, para el funcionamiento correcto de los microorganismos patógenos (Surh, 2003).

Las saponinas son compuestos que afectan la estructura física de las membranas biológicas debido a la naturaleza surfactante de las sustancias. Estos compuestos aumentan la solubilidad y la salida de los componentes celulares lo que provoca la pérdida de la homeostasis celular (Zwane *et al.*, 2011).

Los taninos pueden afectar el crecimiento bacteriano ya que tienen la capacidad de formar complejos con polipéptidos y enzimas de la membrana citoplasmática y de la pared celular, lo que provoca la inhibición del crecimiento de las células y afectaciones a numerosos procesos metabólicos debido a la inactivación de las enzimas (Cowan, 1999). Los flavonoides y los compuestos terpenoides también interfieren con el crecimiento microbiano ya que inhiben el proceso de biosíntesis de los ácidos nucleicos y de los componentes de las membranas biológicas, respectivamente (Nayak *et al.*, 2010).

Los resultados obtenidos sugieren que *Euphorbia lactea* Haw constituye una alternativa botánica promisorio, para el tratamiento de enfermedades bacterianas que afectan a humanos y animales de interés zootécnico.

Actividad molusquicida del látex de *E. lactea* Haw

La Figura 11 muestra los resultados de la actividad molusquicida del látex de *Euphorbia lactea* Haw frente a los caracolillos plagas *Zachrysia* sp. El análisis de la mortalidad evidenció propiedades molusquicidas fuertes con las diluciones 1/50 y 1/100, con las que se obtuvieron valores iguales a 90 y 85%, respectivamente. Los porcentajes de mortalidad fueron inferiores con la aplicación del látex en diluciones mayores de 1/200 (65%) y 1/400 (30%).

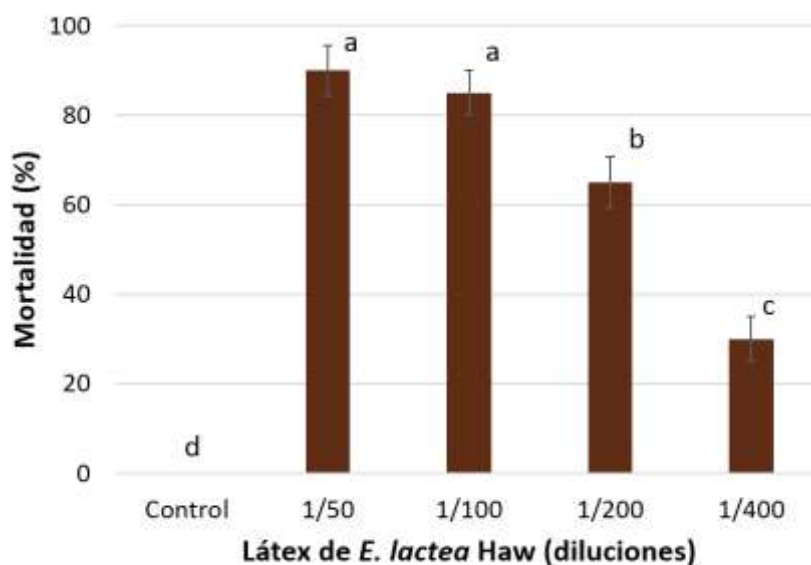


Figura 11. Actividad molusquicida del látex de *Euphorbia lactea* Haw. frente a *Zachrysia* sp. Letras diferentes indican diferencias significativas según Prueba de Student-Newman-Keuls ($P \leq 0,05$).

La aplicación de látex a los moluscos en estudio provocó una disminución notable de la actividad de alimentación. En la Figura 12 se puede observar cómo incluso en la mayor dilución evaluada (1/400), las hojas no fueron consumidas y se mantuvieron con el 100% de la superficie foliar; a diferencia del control donde los individuos se alimentaron inmediatamente que se colocaron en la placa Petri. Este resultado puede estar dado por el efecto tóxico del látex sobre el animal, que provocó cambios fisiológicos importantes y que afectaron la homeostasis a diferentes niveles (celular, tisular, órgano y organismo) y provocaron la muerte paulatina en la mayoría de los animales.

Estos resultados están en correspondencia con los obtenidos con extractos de *Euphorbia pulcherrima* y *Euphorbia hirta*, donde la aplicación de dosis subletales al caracol *Lymnaea acuminata* Lamarck, provocaron alteraciones en diferentes parámetros fisiológicos como los niveles totales de proteínas, aminoácidos libres, ácidos nucleicos y numerosas enzimas con funciones metabólicas importantes (Singh *et al.*, 2005; Shi *et al.*, 2008).

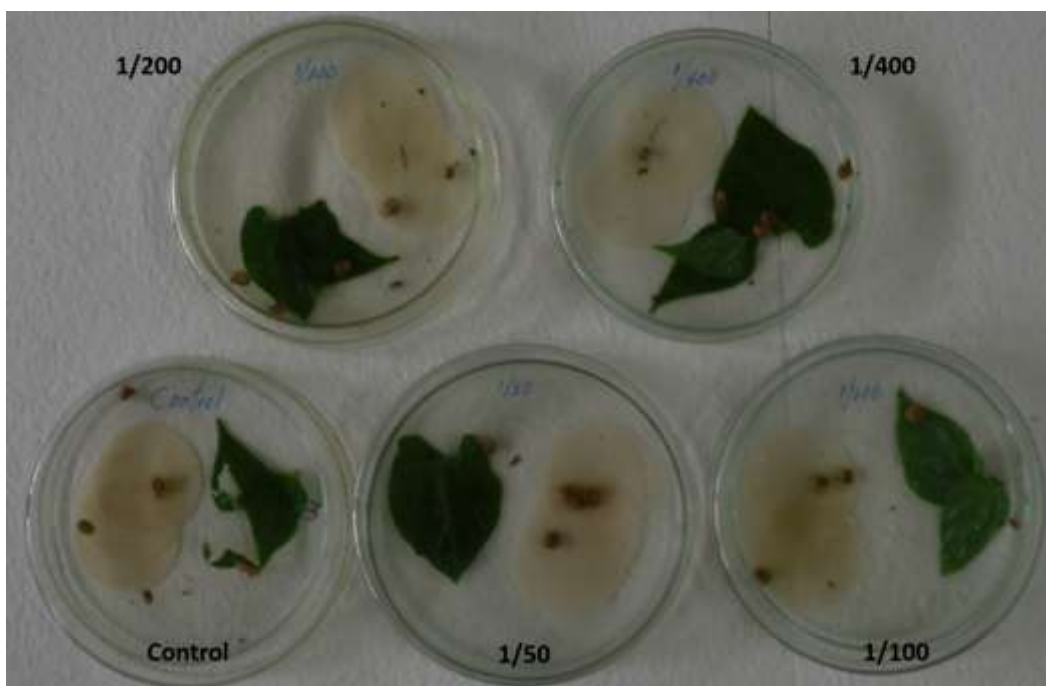


Figura 12. Efecto del látex de *Euphorbia lactea* Haw. sobre la alimentación de *Zachrysis* sp. Fuente: Miguel A. Carrasco Álvarez.

Los resultados obtenidos concuerdan con los referidos por Singh y Agarwal en 1988, quienes observaron un efecto molusquicida del látex de *Euphorbia lactea* Haw. frente al gastrópodo *Lymnaea acuminata* Lamarck. En trabajos similares realizados por Chauhan y Singh (2015), se observó un efecto molusquicida del extracto de *Euphorbia turicalli* L. frente a *Lymnaea acuminata* y *Endoplanorbis exustus*. Estos autores determinaron una disminución en el contenido de proteínas, glucógeno y ácidos nucleicos en los tejidos nervioso y hepatopancreático, mientras que los niveles de aminoácidos libres y proteasas se incrementaron. Esta disminución en el contenido proteico y el aumento en la concentración de aminoácidos, se debieron al aumento de la proteólisis enzimática, para la obtención de energía metabólica y para el recambio de

proteínas mediante la síntesis *de novo*. La disminución en el contenido de ADN también pudo afectar los niveles de proteínas y aminoácidos ya que disminuyen también las concentraciones de ácidos ribonucleicos mensajeros (Nordenskjold *et al.*, 1979).

El efecto tóxico del látex de *E. tirucalli* L. sobre *Lymnaea acuminata* Lamark, también fue verificado por otros autores, quienes observaron cambios considerables en las concentraciones de piruvato, glucógeno, lactato, proteínas totales y aminoácidos libres en el caracol (Tiwari y Singh, 2005). En trabajos similares, el polvo del látex de esta especie vegetal mostró una inhibición considerable de la enzima acetilcolinesterasa en *L. acuminata* Lamarck y *Indoplanorbs exustus* (MacNeil *et al.*, 2003).

En trabajos relacionados, el látex de *Euphorbia umbellata* (Pax) mostró una actividad molusquicida elevada frente al caracol *Biomphalina glabrata* (Basommatophora: Planorbidae). En este estudio se obtuvo un 90% de mortalidad con una concentración de 3,69 mg.L⁻¹ y se relacionó este efecto con la presencia de compuestos terpenoides y cumarinas tóxicas (Pereira *et al.*, 2014).

La presencia de saponinas en el látex de *E. lactea* Haw. también pudo influir sobre la actividad molusquicida observada, ya que su efecto sobre estos animales está bien documentada (Hammuel *et al.*, 2011; Almaraz-Abarca *et al.*, 2013). Su acción biológica se relacionó con la actividad irritante que producen estos compuestos sobre la mucosa del tubo digestivo. Luego de su absorción hasta el torrente sanguíneo, se produce la hemólisis de los eritrocitos y en dosis elevada pueden provocar la parálisis cardíaca (Coto y Saunders, 1985).

La aplicación del látex encima de las hojas pudo también inhibir el instinto de alimentación en los animales, debido a la presencia de metabolitos secundarios tóxicos como los diterpenos, que irritan y pueden dañar la cavidad bucal y el tracto digestivo de los gastrópodos.

En la Figura 13 se muestra el comportamiento que tuvieron los individuos control y aquellos que se les aplicó el látex con la mayor concentración (1/50). En el caso del control se observó un comportamiento normal donde los individuos

se movieron a través de toda la placa, consumieron alimento y defecaron de manera regular. En el caso de los animales tratados con el látex de *E. lactea* Haw, se observó posterior a los 30 minutos una tendencia a la inmovilidad y los animales perdieron el reflejo retráctil del pie musculoso.

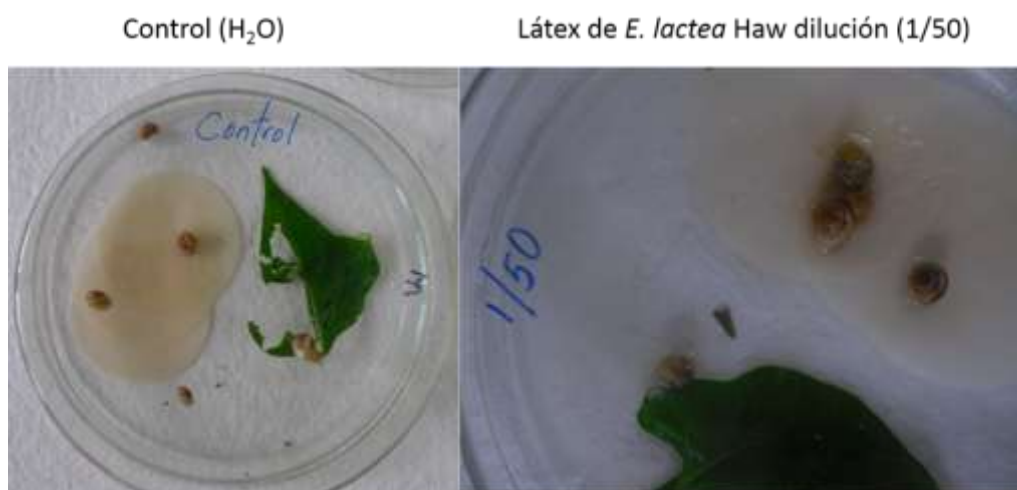


Figura 13. Efecto del látex de *Euphorbia lactea* Haw. sobre *Zachrysis* sp. Fuente: Miguel A. Carrasco Álvarez.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores con extractos de *Euphorbia* spp. Abdelgaleil (2001) refirió actividades molusquicidas y anti-alimentarias de diterpenoides extraídos de *Euphorbia paralias*. Estos metabolitos secundarios mostraron un efecto inhibitorio potente contra el gastrópodo *Biomphalaria alexandrina*.

Valoración económica-ambiental del uso de los extractos *Euphorbia lactea* Haw.

Los productos molusquicidas son plaguicidas artificiales orgánicos o inorgánicos, que se utilizan para el control de moluscos plagas y vectores de enfermedades (Ntalli *et al.*, 2011). Estos compuestos de origen químico pueden afectar la salud humana directa e indirectamente, atacar otros organismos beneficiosos como los controladores biológicos y provocar la resistencia no selectiva a organismos patógenos.

En la actualidad, el uso de molusquicidas botánicos se considera una estrategia viable para el control de caracoles hospederos de diferentes patógenos. Varios autores indican las potencialidades de numerosas especies vegetales con principios bioactivos, para el desarrollo de productos naturales controladores de moluscos (Tariwari et al., 2015; Mohamed et al., 2016). El uso de plantas con propiedades de este tipo constituye una alternativa simple, poco costa y segura; ya que por lo general, los productos naturales derivados de plantas no persisten mucho tiempo en la cadena trófica y los daños colaterales que ocasionan son mínimos (Singh y Singh, 2010; Rocha et al., 2013).

La elaboración de extractos acuosos con látex de *Euphorbia lactea* Haw., posee potencialidades para su empleo como molusquicida. Los resultados obtenidos en la presente investigación sugieren un uso de esta planta para el control de estas plagas, con una efectividad elevada. Además, el cardón se utiliza como cerca viva en numerosas áreas de cultivo, por lo cual constituye un recurso disponible para el campesino; además, la preparación es sencilla y de bajo costo. Sin embargo, su empleo requiere de medidas de protección debido a la irritabilidad que provoca el látex y además, es necesario realizar ensayos adicionales para evaluar la toxicidad ecológica del producto. Por otra parte, el desarrollo de productos naturales con extractos de *E. lactea* Haw. tiene como ventajas la reducción de los costos por concepto de insumos como plaguicidas químicos y disminuir el impacto ambiental, aspectos que son demandados por los productores agrícolas.

4. CONCLUSIONES

- ✓ Se observó la presencia de terpenos, flavonoides, taninos, saponinas, esteroides y glucósidos cardiotónicos en los extractos acuosos y etanólicos del tallo de *Euphorbia lactea* Haw., los cuales poseen potencialidades para el desarrollo del sector agropecuario y médico-farmacéutico.
- ✓ Los extractos etanólicos del tallo de *Euphorbia lactea* Haw. mostraron una actividad antibacteriana notable frente *Proteus* sp. y *Staphylococcus aureus*, asociado a la presencia de metabolitos secundarios.
- ✓ El látex de *Euphorbia lactea* Haw. tuvo un efecto molusquicida sobre el gastrópodo *Zachrysia* sp. Los mejores resultados se observaron con las diluciones 1/50 y 1/100, donde se obtuvieron valores de mortalidad de 90 y 85%, respectivamente.

6. RECOMENDACIONES

- ✓ Realizar estudios de toxicidad del látex de *Euphorbia lactea* Haw., así como investigaciones sobre el efecto del extracto en sistemas agroecológicos.
- ✓ Evaluar las propiedades fungicidas, nematocidas e insecticidas del extracto de *Euphorbia lactea* Haw.
- ✓ Determinar el efecto antibacteriano frente a cepas que provocan enfermedades en plantas.
- ✓ Realizar estudios bioquímicos de fraccionamiento más profundos, con el objetivo de aislar los principios bioactivos asociados a las actividades biológicas observadas en la presente investigación.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdelgaleil, S.A.M., Kassem, S.M.I., Doe, M., Baba, M. y Nakatani, M. 2001. Diterpenoids from *Euphorbia paralias*. *Phytochemistry*. 58: 1135-1139.
- AinilFarhan, M.U., Lee, P.C., How, S.E. y Jualang, A.G. 2013. Antibacterial activities of *Agave angustifolia* and *Pittosporum ferrugineum*. *Environmental Microbiology and Toxicology*. 1 (1): 15-17.
- Almaraz-Abarca, N., González-Elizondo, M., Campos, M., Ávila-Sevilla, Z.E., Delgado-Alvarado, E.A. y Ávila-Reyes, J.A. 2013. Variability of the foliar fenol profiles of the *Agave victoriae-reginae* complex (Agavaceae). *Botanical Sciences*. 91 (3): 295-306.
- Altundağ, E. y Öztürk, M. 2011. Ethnomedicinal studies on the plant resources of East Anatolia, Turkey. *Procedia Sos Behav Sci*. 19: 756-777.
- Alvarez, M.R., Heralde, F. y Quiming, N. 2016. Screening for larvicidal activity of ethanolic and aqueous extracts of selected plants against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae. *Journal of Coastal Life Medicine*. 4(2): 143-147.
- Augusto, R.C., Friani, G., de Vasconcellos, M.C., de Azevedo-Rodrigues, M.L. y Mello-Silva, C.C. 2015. *Schistosoma mansoni*: Phytochemical Effect on Aquatic Life Cycle. *Open Journal of Veterinary Medicine*. 5: 127-132. <http://dx.doi.org/10.4236/ojvm.2015.56017>.
- Azoui, I., Frah, N. y Nia, B. 2016. Insecticidal effect of *Euphorbia bupleuroides* latex on *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae). *International Journal of Pure and Applied Zoology*. 4(3): 271-276.
- Baloch, I.B., Baloch, M.K., Baloch, A.K. 2010. Effect of *Euphorbia cornigera* extract on *Biomphalaria glabrata*. *Planta Med*. 76: 809-814.
- Barrueta, O., Martín, C.V., Castellanos, L. y Jiménez, R. 2017. Extracto acuoso de *Euphorbia lactea* Haw como alternativa local para el control de *Plutella xylostella* L. en col. *Revista Centro Agrícola*. 44 (1): 49-55.
- Battu, G.R., Ethadi, S.R., Priya, V.G., Priya, S.K., Chandrika, K., Rao, V.A. y Reddy, S.O. 2011. Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity of *Euphorbia heyneana* Spreng. *Asian Pacific J Trop Biomed*, 191-194.
- Betancur-Galvis, L.A., Morales, G.E., Forero, J.E. y Roldan, J. 2002. Cytotoxic and antiviral activities of Colombian medicinal plant extract of the *Euphorbia* genus. *Mem Inst*. 97: 541-546.
- Bettiol, W. 2006. Ponencia magistral Productos alternativos para el manejo de enfermedades en cultivos comerciales. *Revista Fitosanidad*. 2 (10): 85-98.
- Bigoniya, P., Shukla, A. y Shekar, Ch. 2010. Dermal irritation and sensitization study of *Euphorbia neriifolia* latex and its anti-inflammatory efficacy. *International Journal of Phytomedicine*. 2: 240-254.

- Botta, S., Del Piñal, C.S., De la Luz, M., Cortázar, R. y Leiseca, A. 1990. Manual de Botánica Sistemática. Apuntes para un libro de texto. Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias de la Habana.
- Campanioni, 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.
- Caxito, M.L.C., Victório, C.P., da Costa, H.B., Romão, W., Kuster, R.M. y Gattass, C.R. 2017. Antiproliferative activity of extracts of *Euphorbia tirucalli* L (Euphorbiaceae) from three regions of Brazil. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 16 (5): 1013-1020.
- Chauhan, S. y Singh, A. 2011. Molluscicidal and ovicidal activity of euphorginol against two harmful freshwater gastropods. *Indian J Nat Prod Res*. 2(4): 452-7.
- Chauhan, S. y Singh, A. 2015. Molluscicidal Effect of Medicinal Plant *Euphorbia tirucalli* on the Harmful Snails in Experimental Ponds. *World Journal of Zoology*. 10 (1): 47-53.
- Chigodi, M.O., Samoei, D.K. y Muthangya, M. 2013. Phytochemical screening of *Agave sisalana* Perrine leaves (waste). *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 4 (4): 200-204.
- Coto, T. y Saunders, J.L. 1985. Prevención alimentaria de la babosa *Diplosolenodes occidentale* con repelentes botánicos. *Ceiba*. 26 (1): 66-75.
- Cowan, MM. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev*. 12: 564-82.
- Cushnie, T.P. y Lamb, A.J. 2005. Antimicrobial activities of flavonoids. *Inter. J of Anti. Agents*. 26: 343-356.
- Dang, Q.L., Choi, Y.H., Choi, G.J., Park, M.S., No-Joong, P., Lim, C.P., Kim, H., Ngoc, L.H. y Jin-Cheol, K. 2010. Pesticidal activity of ingenane diterpenes isolated from *Euphorbia kansui* against *Nilaparvata lugens* and *Tetranychus urticae*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 13 (1): 51-54.
- Da-Song, Y., Wei-Bing, P., Zi-Lei, L., Xue, W., Jian-Guo, W., Qiu-Xia, H., Yong-Ping, Y., Ke-Chun, L. y Xiao-Li, L. 2014. Chemical constituents from *Euphorbia stracheyi* and their biological activities. *Fitoterapia*. 97: 211–218.
- Devi, S., Jahangir, R. y Kumar, M. 2017. Phytochemical Screening of whole plant extract of *Euphorbia hirta* L. *International Journal of Biology Research*. 2 (4): 91-93.
- Dhanapal, V., Thavamani, S., Muddukrishniah, B. y Kumar, S. 2017. Pharmacognostical and phytochemical evaluation of leaf and stem of

- Euphorbia hirta*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 6(6): 255-262.
- Dinesh, D.S., Kumari, S., Pandit, V., Kumar, J., Kumari, N., Kumar, P., Faizan, H., Kumar, V. y Da, P. 2015. Insecticidal effect of plant extracts on *Phlebotomus argentipes* (Diptera: Psychodidae) in Bihar, India. *Indian J Med Res* 142 (Supplement): 95-100. DOI:10.4103/0971-5916.176633
- Diniz, J.F.S., da Silva, P.R., dos Reis, M.R., Endo, R.T., Ramos, R.S., Fernandes, F.L. y da Silva, I.W. 2014. Insecticide Activity of Weeds to Pests of Stored Product and Crops. *Journal of Agricultural Science*. 6 (7): 194-199.
- dos Santos, G., Barboza, L., da Silva, L.S., dos Santos, M.L., Carneiro, E., Silva, C. y Lopes, M.T. 2016. Insecticidal activity of plant extracts and essential oils of bleed water against the bean weevil. *Journal of Stored Products and Postharvest Research*. 7(7): 69-75.
- Draughon, F.A. 2004. Use of Botanicals as Biopreservatives in foods. *Food Technol*. 58 (2): 20-28.
- Dubois, M.K., Gilles, A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. y Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substance. *Anal Chem*. 28: 350-356.
- Ebana, R.U.B., Madunagu, B.E. y Ekpe, E.D. 2005. Microbiological exploitation of cardiac glycosides and alkaloids from *Garcinia kola*, *Boreeli ocymoides*, *Kola nitida*, *Citrus aurantifolia*. *J of Appl. Bacteriol*. 71: 398-401.
- El-sherei, M.M., Islam, W.T., El-Dine, R.S., El-Toumy, S.A. y Ahmed, S.R. 2015. Phytochemical investigation of the cytotoxic latex of *Euphorbia cooperi* N.E.Br. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 9(11): 488-493.
- Enerva, L.T., Atienza, T.V., Glifonea, Z.R., Villamor, O.B. y Villa, N.A. 2015. Cytotoxicity and antimicrobial property of the leaf extract of *Euphorbia hirta* (Tawa-Tawa). *Open Journal of Social Sciences*. 3: 162-170.
- Fatope, M.O., Zeng, L., Ohayaga, J.E., Shi, G. y McLaughlin, J.L. 1996. Selectively cytotoxic diterpenes from *Euphorbia poissonii*. *J Med Chem*. 39:1005-1008.
- Fei, Y., Qi, W. y Zhen, Z. 2013. Development of Oleanane-Type Triterpenes as a New Class of HCV Entry Inhibitors. *J. Med. Chem*. 56 (11): 4300-4319.
- Fernandez-Arche, A., Saenz, M.T., Arroyo, M., de la Puerta, R. y Garcia, M.D., 2010. Topical anti-inflammatory effect of tirucallol, a triterpene isolated from *Euphorbia lactea* latex. *Phytomedicine*. 17: 146-148.

- Ferreira, A.M.V., Carvalho, L.H., Carvalho, M.J.M., Sequeira, M.M. y Silva, A.M. 2002. Jatrophone and lathyrane diterpenoids from *Euphorbia hyberna* L., *Phytochemistry*. 61:373-377.
- Geng, Z.F., Liu, Z.L., Wang, C.F., Liu, Q.Z., Shen, S.M., Liu, Z.M., Du, S.S. y Deng, Z.W. 2011. Feeding deterrents against two grain storage insects from *Euphorbia fischeriana*. *Molecules*. 16 (1): 466-476.
- Ghanadian, S.M., Ayatollahi, A.M., Afsharypour, S., Hareem, S., Abdalla, O.M. y Bankeu, J.J.K. 2012. Flavonol glycosides from *Euphorbia microsciadia* Bioss. with their immunomodulatory activities. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 11(3):925.
- Gonzalez-Valdez, L.S., Almaraz-Abarca, N., Proal-Nájera, J.B., Robles-Martinez, F., Calencia-Del-Toro, G. and Quintos-Escalante, M. 2013. Surfactant properties of the saponins of *Agave durangensis*, aplicación on arsenic removal. *International Journal of Engineering and Applied Sciences*. 4(2): 87-94.
- Guerra de L.J.O., Nogueiras, C., Delgado, R. y Hernández, O. 2001. Determinación cuantitativa de saponinas y azúcares reductores de *Agave briottoniana* T. *Revista Cubana de Química*. 13(3): 37-42.
- Gurr, S.I., Mc Pherson, M.I. y Bowles, D.J. 1992. Lignin and associated phenolic acids in cell walls. *Molecular Plant Pathology and Practical Approach*. 3: 62-69.
- Hammuel, C., Yebpella, G.G., Shallangwa, G.A., Asabe, M., Magomya, A.M. y Agbaji, A.S. 2011. Phytochemical and antimicrobial screening of methanol and aqueous extracts of *Agave sisilana*. *Acta Pannoniae Pharmaceutica-Drug Research*. 68: 535-539.
- Han, X., Shen, T. y Lou, H. 2007. Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*. 8: 950-988.
- Hohmann, J. y Molnar, J. 2004. Euphorbiaceae diterpenes: Plant toxins or promising molecules for the therapy? *Acta Pharm. Hung.* 74: 149-157.
- Ibraheim, Z.Z., Ahmed, A.S. y Abdel-Mageed, W.M. 2013. Chemical and Biological Studies of *Euphorbia aphylla*. *Journal of Natural Remedies*. 13 (1): 35-45.
- Ilyas, M., Perveen, M., Muhaisen, H.M.H. y Basudan, O.A. 2003. A novel triterpene (Nerifolione) a potent anti-inflammatory and antiarthritic agent from *Euphorbia nerifolia*. *Hamdard-Medicine (Pakistan)*. 46 (2): 97-102.
- Jassbi, A.R. 2006. Chemistry and biological activity of secondary metabolites in *Euphorbia* from Iran. *Phytochemistry*. 67: 1977-1984.
- Jianbo, L., Jun, D., Jiangling, X. y Haji, A.A. 2012. Chemical Composition, Antimicrobial and Antitumor Activities of the Essential Oils and Crude

- Extracts of *Euphorbia macrorrhiza*. *Molecules*. 17: 5030-5039. doi:10.3390/molecules17055030.
- Karabaliev, M. y Kochev, V. 2003. Interaction of solid supported thin lipid films with saponin. *Sens Actuators B. Chem.* 88: 101-105.
- Kausar, J., Muthumani, D., Sivasamy, A.H. y Vijaya, A. 2016. Review of the phytochemical and pharmacological activities of *Euphorbia hirta* Linn. *Pharmacognosy Journal*. 8 (4): 310-313.
- Keerthana, K., Deepa, A., Shobana, G., Jothi, G y Sridharan, G. 2014. Preliminary phytochemical screening and *in vitro* antioxidant potential of *Euphorbia heterophylla* L. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6 (8): 549-553.
- Khade, K.V., Dubey, H., Tenpe, Ch.R., Yeole, P.G. and Patole, A.M. 2011. Anticancer activity of the ethanolic extracts of *Agave americana* leaves. *Pharmacologyonline*. 2: 53-68.
- Kumar, A. y Saikia, D. 2016. *Euphorbia antiquorum* Linn: A Comprehensive Review of Ethnobotany, Phytochemistry and Pharmacology. *Journal of Analytical & Pharmaceutical Research*. 2(4): 1-5.
- Kumar, T., Gupta, A., Gidwani, B. y Kaur, Ch.D. 2015. Phytochemical Screening and Evaluation of Anthelmintic Activity of *Euphorbia tithymaloidus*. *International Journal of Biological Chemistry*. 9 (6): 295-301.
- Kumara, S.M., Pokharen, N., Dahal, S. y Anuradha, M. 2011. Phytochemical and antimicrobial studies of leaf extract of *Euphorbia neriifolia*. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(24): 5785-5788.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. y Randall, R. 1951. Protein measurement the Folinphenol reagent. *J Biol Chem*. 193: 265-275.
- MacNeil, A., Sumba, O.P., Lutzke, M.L., Moormann, A. y Rochford, R. 2003. Activation of the Epstein–Barr virus lytic cycle by the latex of the plant. *Euphorbia tirucalli*. *Brit J Cancer*. 3 (88): 1566-1569.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Bender. K.S. y Stahl, D.A. 2015. *Brock Biology of Microorganism*. 14 Ed. Página 74- 81.
- Mali, P.H. y Panchal, S.S. 2017. *Euphorbia tirucalli* L.: Review on morphology, medicinal uses, phytochemistry and pharmacological activities. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 7(7): 603–613.
- Martínez, Y., Castellanos, L. y Ortega, I. 2014. Efecto insecticida de extractos de plantas para el control de áfidos de la habichuela en la Empresa Azucarera Elpidio Gómez. *Agroecosistemas*. 2 (1): 208-214.
- McCullough, F.S., Gayral, P.H., Duncan, J. y Christie, J.D. 1980. Molluscicides in schistosomiasis control. *Bull World Health Organ*. 58: 681-689.

- Miller, G. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31: 426-428.
- MINSAP (Ministerio de Salud Pública). 1997. Guía metodológica para la investigación en plantas medicinales. La Habana: Editorial Pueblo y Educación.
- Mohamed, A.I., Waleed, S.K., El-badri, E.O., Mahmoud, M.D., Mohammed, I.G., Alsadeg, M.A. y Ahmed, S.K. 2016. Molluscicidal Activity of *Acacia seyal* (Dell) Bark Methanolic Extract Against *Biomphalaria pfeifferi* Snails. 2 (82): 74-79.
- Moreira, C.P., Zani, C.L. y Alves, T.M. 2010. Atividade moluscicida do látex de *Synadenium carinatum* Boiss. (Euphorbiaceae) sobre *Biomphalaria glabrata* e isolamento do constituinte majoritário. *Rev Eletron Farm.* 8: 16-27.
- Munro, B., Vuong, Q.V., Chalmers, A.C., Goldsmith, Ch.D., Bowyer, M.C. and Scarlett, Ch.J. 2015. Phytochemical, Antioxidant and Anti-Cancer Properties of *Euphorbia tirucalli* Methanolic and Aqueous Extracts. *Antioxidants.* 4: 647-661. doi:10.3390/antiox4040647.
- Mwine, J., Damme, P.V. y Jumba, F. 2010. Evaluation of larvicidal properties of the latex of *Euphorbia tirucalli* L. (Euphorbiaceae) against larvae of *Anopheles* mosquitoes. *J Med Plants Res.* 4(19): 1954-1959.
- Nandi, B., Roy, S., Bhattacharya, S. y Babu, S.P. 2004. Free radicals mediated membrane damage by the saponins acaciaside A and acaciaside B. *Phyther Res.* 18(3): 191-194.
- Natarajan, D., Britto, S.J., Srinivasan, K., Nagamruga, N., Mohanasundari, C. y Perumal, G. 2005. Antibacterial activity of *Euphorbia fusiformis*- a rare medicinal herb. *J Ethnopharmacol*, 102: 123-126.
- Nayak, B.S., Ramdath, D.D., Marshall, J.R., Isitor, G.N., Eversley, M., Xue, S. y Shi, J. 2010. Wound healing activity of the skin of the common grape (*Vitis vinifera*) Variant, Cabernet Sauvignon. *Phytother. Res.* 24: 1151-1155.
- Ndam, L.M., Mih, A.M., Tening, A.S., Fongod, A.G.N., Temenu, N.A. y Fujii, Y. 2016. Phytochemical analysis, antimicrobial and antioxidant activities of *Euphorbia golondrina* L.C. Wheeler (Euphorbiaceae Juss.): an unexplored medicinal herb reported from Cameroon. *SpringerPlus.* 5 (264): 1-15.
- Nelofar, A., Suhail, T. y Ahmad, S. 2006. Evaluation of anti-bacterial activity of a locally available medicinal plant *Euphorbia hirta*. *J Chem Soc Pak.* 28(6): 623-626.
- Newall, C.A., Anderson, L.A. y Phillipson, J.D. 1996. Herbal medicines. London: The Pharmaceutical Press. p. 109.
- Niranjan, K., Sathiyaseelan, V. y Jeyaseelan, E.C. 2013. Screening for antimicrobial and phyto chemical properties of different solvents extracts of leaves

- of *Pongamia pinnata*. *International Journal of Scientific and Research Publications*. 3(1): 1-6.
- Noori, M., Chechreghani, A. y Kavch, M. 2009. Flavonoids of 17 species of *Euphorbia* (Euphorbiaceae) in Iran. *Toxicol Environ Chem*, 91 (4): 631-641.
- Nordenskjold, M., Soderhall, J. y Moldens, P. 1979. Studies on DNA strands breaks induced in human fibroblasts by chemical mutagens and carcinogens. *Mutant. Res.* 63: 393-400.
- Nouri, A., Lorigooini, Z., Asadi-Samani, M. y Kakian, F. 2017. "Review On Botany, Traditional Uses, Phytochemistry and Biological Activities Of *Euphorbia microsciadia* Boiss". *International Journal of Health Medicine and Current Research*. 2 (04): 685-692.
- Nözbilgin, S. y Saltan, G. 2012. Uses of some *Euphorbia* species in traditional medicine in Turkey and their biological activities. *Turk J. Pharm. Sci.* 9(2): 241-256.
- Ntalli, N.G. y Menkissoglu-Spiroudi, U. 2011. Pesticides of botanical origin: A promising tool in plant protection. pp. 3-24. In *Pesticides-Formulations, Effects, Fate*. Stoytcheva, M. (Ed.). In Tech. Disponible en: <http://www.intechopen.com/book/pesticides-formulations-effects-fate/pesticides-of-botanical-origin-a-promisinn-tool-in-plant-protection>. Consulta: marzo de 2018.
- Okeniyi, S.O., Adedoyin, B.J. y Garba, S. 2012. Phytochemical screening, cytotoxicity, antioxidant, and antimicrobial activities of stem and leave extracts of *Euphorbia heterophylla*. *Bull Environ Pharmacol Life Sci*. 1 (8): 87-91.
- Oliveira-Filho, E.C., Geraldino, B.R., Coelho, D.R., De-Carvalho, R.R. y Paumgarten, F.J. 2010. Comparative toxicity of *Euphorbia milii* latex and synthetic molluscicides to *Biomphalaria glabrata* embryos. *Chemosphere*. 81: 218-227.
- Ortega, I., Castellanos, L. y Sosa, M.O. 2013. Efecto de los extractos *Azadirachta indica* A. Juss., *Melia azedarach* L. y *Eucalyptus* sp. sobre *Cylas formicarius* var *elegantulus* (sum.) y *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Agroecosistemas*. 1 (1): 44-51.
- Ortega, I., Castellanos, L., Rivero, T., Martín, C. y Fernández, A. 2008. Inventario de plantas repelentes y/o fitoplaguicidas en las unidades de la agricultura urbana de la provincia Cienfuegos. *Centro Agrícola*. 35 (1): 91-92.
- Oso, B.A. y Ogunnusi, T.A. 2017. Antibacterial Activity of Methanolic Extracts of *Euphorbia heterophylla* and *Tithonia diversifolia* against Some Microorganisms. *European Journal of Medicinal Plants*. 20(3): 1-8.

- Pandey, A. y Verma, N. 2013. Evaluation of antimicrobial activity of *Euphorbia hirta* and *Calotropis procera* against MDR pathogens. *IJPAES*. 3(3): 17-24.
- Parekh, J. y Chanda, S. 2006. Antibacterial and phytochemical studies on twelve species of Indian medicinal plants. *African Journal of Biomedical Research*. 10: 175- 181.
- Pascal, O.A., Virgyle, A.E., Esaïe, T., Hounzangbé-Adoté, M.S. y Eloi, A.Y. 2017. A review of the ethnomedical uses, phytochemistry and pharmacology of the *Euphorbia* genus. *The Pharma Innovation Journal*. 6(1): 34-39
- Peña, A., Castellanos, L. y Bata, A. 2013. Efecto de extractos de plantas para el control de áfidos de la habichuela (*Vigna unguiculata* L.) como alternativa local en la agricultura urbana. *Agroecosistemas*. 1 (2): 148-156.
- Pereira, A.A., França, C.R.C., Oliveira, D., Mendes, R.J., Gonçalves, J.R.S. y Rosa, I.G. 2014. Evaluation of the molluscicidal potential of hydroalcoholic extracts of *Jatropha gossypifolia* Linnaeus, 1753 of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Pablo*. 56 (6): 505-510.
- Pereira, L.P.L., Dias, C.N., Miranda, M.V., Araújo, W.C., Rosa, C.S., Santos, P.S., Brito, M.C.A., Sousa, F.O., Araruna, F.B., Silva-Souza, N., Coutinho, D.F. 2017. Molluscicidal effect of *Euphorbia umbellata* (Pax) Bruyns latex on *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* host snail. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 59 (85): 1-5.
- Pérez, C., Paul, M. y Bazerque, P. 1990. An antibiotic assay by the agar well diffusion method. *Acta Bio. Med. Exp*. 15: 113- 115.
- PIER, 2016. Pacific Islands Ecosystems at Risk. HEAR, University of Hawaii, Honolulu, USA. Disponible en: <http://www.hear.org/pier/index.html>. Consulta: junio, 2017.
- Polat, R. y Satil, F. 2012. An ethnobotanical survey of medicinal plants in Edremit Gulf (Balikesir Turkey). *J Ethnopharmacol*. 139: 626-641.
- Pracheta, S.V., Veena, S., Ritu, P. y Sadhana, S. 2011. Preliminary Phytochemical Screening and in vitro Antioxidant Potential of Hydro-Ethanol extract of *Euphorbia neriifolia* Linn. *Int J Pharm Tech Res*. 3(1):124-132.
- PROTA, 2016. Prota4U web database. Grubben GJH, Denton OA, eds. Wageningen, Netherlands: Plant Resources of Tropical Africa. Disponible en: <http://www.prota4u.org/search.asp>. Consulta: mayo, 2017.
- Rathi, S.G., Patel, K.R. y Bhaskar, V.H. 2012. Isolation of herbal plants: antifungal and antibacterial activities. *J Pharma Sci Biosci Res*. 2(1): 25-9.
- Ribeiro, G.E., Noronha, N.M., Ribeiro, I.S., Moraes, G.O.I., Marques, M.J., dos Santos, M.H., Coelho, L.F.L. y Chavasco, J.K. 2015. Phytochemical profile,

- antibacterial, antioxidant and cytotoxicity activities of *Euphorbia cotinifolia*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 9 (2): 19-25.
- Rocha, T.J.M., Nascimento, F.B.P., Noé, B.D.R., Veiga, J.C.P., Costa, G.N., Aragao, M.B. y Santos, A.F. 2013. Estudo do efeito molusquicida de espécies vegetais em embriões e caramujos adultos de *Biomphalaia glabrata* Say, 1818 (*Gastropoda, Planorbidae*). *Revista Patologia Tropical*. 42: 230-239.
- Roig, J.T. 1988. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. Editorial Científico- Técnica. Ciudad de la Habana.
- Roselló, B., Vázquez, L., Ramos, M. and Lescay, W. 2012. Evaluación del extracto acuoso de *Euphorbia lactea* para la disminución de afectaciones por *Diabrotica balteata* en habichuela Lina (*Vigna unguilata*). *Revista Granma Ciencia*, 16 (2): 1-8.
- Saleem, U., Hussain, K., Ahmad, M., Bukhari, N.I., Malik, A. and Ahmad, B. 2014. Physicochemical and phytochemical analysis of *Euphorbia helioscopia* (L.). *Pak. J. Pharm. Sci.* 27 (3): 577-585.
- Salmasi, Z., Ramezani, M., Noghabi, Z.S. y Behravan, J. *Euphorbia microsciadia* percolatio and soxhlet extracts exhibit antiviral activity. 2011. *Pharmacologyonline*. 1: 910-20.
- Samidurai, K. y Nisha, M. 2014. Bioassay guided fractionation and GC-MS analysis of *Euphorbia lactea* extract for mosquito larvicidal activity. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6 (4): 344-347.
- Serkan, O. y Gulcin, S.C. 2012. Uses of some *Euphorbia* species in traditional medicine in Turkey and their biological activities. *Turk J. Pharm. Sci.* 9 (2): 241-256.
- Sezik, E., Yeşilada, E., Honda, G., Takaishi, Y. y Tanaka, T. 2001. Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in Central Anatolia. *J Ethnopharmacol.* 75: 95-115.
- Sharifi, J.R., Abdolhossein, M., Seyedeh, M., Hoseini, A. y Majid, S.R. 2013. A study of Antibacterial potentiality of some plants extracts against multidrug resistant human pathogens. *Scholars Research Library Annals of Biological Research*. 4 (8):35-41.
- Shi, Q.W., Su, X.H. y Kiyota, H. 2008. Chemical and pharmacological research of the plants in genus *Euphorbia*. *Chem Rev.* 108: 4295-4327.
- Shih, M.F., Cheng, Y.D., Shen, C.R. y Chemg, J.Y. 2010. A molecular pharmacology study into the anti-inflammatory actions of *Euphorbia hirta* L. on the LPS-induced RAW 264.7 cells through selective iNOS protein inhibition, *J Nat Med.* 64: 330-335.

- Sigarroa, A. 1985. *Biometría y Diseño Experimental*. La Habana. Editorial Pueblo y Educación. 743 p.
- Singh, A. y Agarwal, R.A. 1988. Possibility of using latex of euphorbiales for snail control. *Sci Total Environ*. 77: 231-236.
- Singh, R. y Geetanjali., L. 2015. Phytochemical and Pharmacological Investigations of *Ricinus communis* Linn. *Algerian J. Nat. Products*. 3(1): 120-129.
- Singh, S.K. y Singh, A. 2010. Metabolic changes in freshwater harmful snail *Lymnaea acuminata* due to aqueous extract of bark and leaf of *Euphorbia pulcherima* plant. *Am. Euras. J. Toxicol. Sci*. 2 (1): 13-19.
- Singh, S.K., Yadav, R.P., Tiwari, S. y Singh, A. 2005. Toxic effect of stem bark and leaf of *Euphorbia hirta* plant against freshwater vector snail *Lymnaea acuminata*. *Chemosphere*. 59(2): 263-270.
- Singla, A.K. y Pathak, K. 2009. Phytoconstituents of *Euphorbia* species. *Fitoterapia*. 61: 483-516.
- Sisodiya, D. y Shrivastava, P. 2017. Qualitative and quantitative estimation of bioactive compounds of *Euphorbia thymifolia* L. *Asian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. 6 (3): 34-43.
- Sobrino, J., Fernandez, A. Ortega, I. y Castellanos, L. 2016. Efecto insecticida del extracto de *Furcraea hexapetala* (Jacq.) Urban sobre *Plutella xylostella* L. Insecticide effect of the extract of *Furcraea hexapetala* (Jacq.) Urban on *Plutella xylostella* L. *Centro Agrícola*. 43 (1): 85-90.
- Strasburger, E.F., Noll, H. y Schimper, A.F.W. 1971. *Tratado de Botánica*. Barcelona: Marin. P. 582.
- Sudhakar, M., Rao, C.V., Rao, P.M., Raju, D.B. y Venkateswarlu, Y. 2006. Antimicrobial activity of *Caesalpinia pulcherrima*, *Euphorbia hirta* and *Asystasia gangeticum*. *Fitoterapia*. 77: 378-380.
- Sun, Y.X. y Liu, J.C. 2011. Chemical constituents and biological activities of *Euphorbia fischeriana* Steud. *Chem Biodivers*. 8: 1205-1214.
- Surh, Y.J. 2003. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Natural Reviews in Cancer*. 3: 768–780.
- Tariwari, C.N. Angaye, S.E., Bassey, E.I., Ohimain, S.C.I. y Philip, I.A. 2015. Molluscicidal and Synergicidal Activities of the Leaves of Four Niger Delta Mangrove Plants Against Schistosomiasis Vectors. *Journal of Environmental Treatment Techniques*. 3 (1): 35-40.
- Tarqui, J. 2007. Efecto de tres bioplaguicidas para el control del pulgón (*Aphis* sp.) en el cultivo de lechuga en ambientes protegidos en la ciudad de El Alto.

Trabajo de Diploma en opinión al título de Ingeniero agrónomo, Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia.

- Tesfay, S.Z., Bertling, I. y Bower, J.P. 2010. Anti-oxidant levels in various tissues during the maturation of 'Hass' avocado (*Persea americana* Mill.). *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*. 85 (2): 106-112.
- Tiwari, S. y Singh, A. 2005. Alterations in carbohydrates and the protein metabolism of the harmful freshwater vector snail *Lymnaea acuminata* induced by the *Euphorbia tirucalli* latex extract. *Environ Res*. 99: 378-86.
- USDA-ARS, 2016. Germplasm Resources Information Network (GRIN). Online Database. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, USA. Disponible en: http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/tax_search.pl. Consulta: junio, 2017.
- Valente, C., Pedro, M., Duarte, A., Nascimento, M.S.J., Abreu, P.M. y Ferreira, M.J.U. 2004. Bioactive diterpenoids, a new jatrophone and two entabietanes, and other constituents from *Euphorbia pubescens*, *J Nat Prod*. 67: 902-904.
- Vázquez, L., Fernández, E. y Lauzardo, J. 2005. Introducción al Manejo agroecológico de plagas en la agricultura urbana (Cuba). INISAV, La Habana, Cuba.
- Venumadhav, K. y Seshagirirao, K. 2017. Phytochemical screening and Antioxidant activity of *Euphorbia caducifolia* extracts. *International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*. 8 (5): 92-96.
- Vimal, J.B. y Das, S.S.M., 2014. *Euphorbia antiquorum* latex and its mosquitocidal potency against *Aedes aegypti*. *J. Entomol. Zool. Stud.*, 2: 267-269.
- Wang, Z.Y., Liu, H.P., Zhang, Y.C., Guo, L.Q., Li, Z.X. y Shi, X.F. 2012. Anticancer potential of *Euphorbia helioscopia* L. extracts against human cancer cells. *Anat Rec*. 295: 223-233.
- Wani, B.A., Ramamoorthy, D., Rather, M.A., Arumugam, N., Qazi, A.K., Majeed, R., Hamid, A., Ganie, S.A. y Ganai, B.A. 2013. Induction of apoptosis in human pancreatic MiaPaCa-2 cells through the loss of mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi_m$) by *Gentiana kurroo* root extract and LC-ESI-MS analysis of its principal constituents. *Phytomedicine*. 20: 723–733.
- WHO (World Health Organization). 1983. Report of the scientific working group on plant molluscicides. Geneva: WHO.
- World Health Organization (WHO). 1965. Memoranda: molluscicide screening and evaluation. *Bull World Health Organ*. 33:567-576.

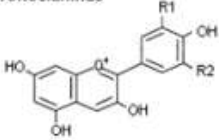
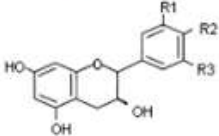
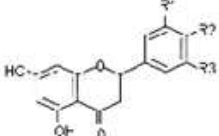
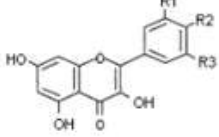
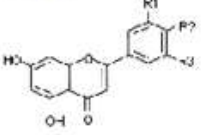
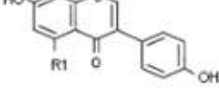
Yadav, R.P. y Singh, A. 2011. Efficacy of *Euphorbia hirta* latex as plant derived molluscicides against freshwater snails. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 53 (2): 101- 106.

Yasukawa, K., Akihisa, T., Yoshida, Z.Y. y Takido, M. 2000. Inhibitory effect of euphol, a triterpene alcohol from the roots of *Euphorbia kansui*, on tumour promotion by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in two-stage carcinogenesis in mouse skin. *J Pharm Pharmacol*. 52 (1):119-124.

Zwane, P.E., Masarirambi, M.T., Magagula, N.T., Dlamini A.M. y Bhebhe, E. 2011. Exploitation of *Agave americana* L plant for food security in Swaziland. *American Journal of Food and Nutrition*. 1 (2): 82-88.

8. ANEXOS

Anexo 1. Clasificación de flavonoides y algunos ejemplos de alimentos que los contienen y sus efectos biológicos. Fuente: Han *et al.* (2007).

Flavonoides	Subclase de flavonoides	Alimentos que los contienen	Efectos biológicos
<p>Antocianinas</p> 	<p>R1=R2=H: Pelargonidina R1=OH; R2=H: Cianidina R1=R2=OH: Delfinidina R1=OCH3; R2=OH: Petunidina R1=R2=OCH3: Malvidina</p>	<p>Moras rojas y azules, uvas, vino tinto</p>	<p>Antioxidante, Antiinflamatorias, Antihipertensivos, Neuroprotectores, Inhibe peroxidación lipídica, Antidiabéticos</p>
<p>Flavanoles</p> 	<p>R1=R2=OH; R3=H: Catequina R1=R2=R3=OH: Galocatequina</p>	<p>Té verde, chocolate, uvas, moras, manzana, té negro y Oolong, Chocolate, uvas rojas, moras, vino tinto</p>	<p>Antioxidante, Antiproliferativos, Prevención de enfermedades cardiovasculares y cerebro vasculares, Anticancerígenos Antidiabéticos</p>
<p>Flavanonas</p> 	<p>R3=H; R2=OH: Naringenina R3=R2=OH: Quercetina R1=OH; R2= OCH3: Hesperidina</p>	<p>Cítricos, jugos</p>	<p>Antiproliferativas, Antiinflamatorias, Disminución de adhesión de moléculas</p>
<p>Flavonoles</p> 	<p>R2=OH; R1=R3=H: Kaempferol R1=R2=OH; R3=H: Quercetina R1=R2=R3=OH: Miricetina</p>	<p>Cebollas amarillas, cebolletas, col, brócoli, manzana, moras, té</p>	<p>Antioxidante, Prevención de enfermedades cardiovasculares y cerebro vasculares Anticancerígenos</p>
<p>Flavonas</p> 	<p>R1=H; R2=OH: Apigenina R1=R2=OH: Luteolina</p>	<p>Perejil, tomillo, apio, chiles</p>	<p>Antiproliferativos, Anticancerígenos, Antiinflamatorias,</p>
<p>Isoflavonas</p> 	<p>R1=H: Diadzeína R1=OH: Genisteína</p>	<p>Frijol de soya, alimentos a base de soya, legumbres</p>	<p>Propiedades estrogénicas, Anticancerígenos, Antiproliferativas Inhibe peroxidación lipídica</p>