

Estudios acerca de la limitada influencia de los abonados, sobre la producción de principios activos por las plantas medicinales *

J. NOSTI NAVA, Ing.º Agrónomo. Jefe de la Sección de Farmacoergasia del Instituto de Farmacognosia.-C. S. de I. C.

J. CABO TORRES, Catedrático de Farmacognosia. Jefe de la Sección de Granada.

P. PARDO GARCIA, Prof. Adjunto de Farmacognosia.

P. ARTIGAS GIMENEZ, Jefe de la Sección de Farmacobotánica.

M. PANADERO VIDAL, Ayudante.

INTRODUCCIÓN

En esta amplia comunicación hemos querido recoger un aspecto de la actividad de la Sección de Farmacoergasia del Instituto de Farmacognosia del Consejo Superior de Investigaciones Científicas en conexión con el Servicio de Plantas Medicinales del Ministerio de Agricultura. En los trabajos que se reúnen aquí ha intervenido personal de ambos Centros, así como de la Cátedra de Farmacognosia

Se refiere este aspecto al planteamiento de experiencias con el fin de comprobar la influencia que, sobre el contenido en principios activos de las plantas medicinales —y por tanto en el interés económico de su cultivo—, pueden tener los distintos abonados.

Entre los inconvenientes fundamentales, al acometer el estudio experimental en este tipo de problemas, está el conocimiento tan sumamente imperfecto que aun hoy se tiene de la formación y papel de los principios activos, en el vegetal.

* Un avance de esta comunicación fué presentado y discutido en el X Congreso Internacional de Industrias Agrícolas y Alimenticias celebrado en Madrid en 1954. Hoy lo traemos a estas páginas tras haberlo considerado de nuevo e incorporado ulteriores datos.

Tampoco puede olvidarse la enorme influencia que las distintas características físico-químicas de suelos naturales diferentes, tienen sobre la producción de principios activos. Así, por ejemplo, el tamaño de las partículas se ha comprobado influía sobre el contenido en macilago de la raíz de altea (11) la humedad del suelo sobre las constantes del aceite de linaza (31), el pH sobre la riqueza alcalóidica del estramonio (32) etc.

* * *

Conocido de muy antiguo el efecto beneficioso que sobre el desarrollo de las plantas cultivadas produce la adición conveniente de abonos al terreno, bien sean orgánicos o minerales, era lógico pensar que esta misma influencia podía reflejarse en el contenido en principio activo. Resultaría totalmente imposible querer reflejar aquí las numerosas experiencias que con esta orientación, y con los resultados más contradictorios, se han planteado por los distintos autores de todos los países, preocupados por el interés científico y económico del problema.

Una idea suficientemente amplia de lo contradictorio de los resultados obtenidos, trabajando con plantas alcaloidicas, esenciales y con otros tipos de principios, puede sacarse de la lectura de los diferentes trabajos y conclusiones generales de los mismos presentados y discutidos en las jornadas sobre «Cultivo de plantas medicinales y útiles», celebradas en 1957 en Wageningen (Holanda) (*). A ellas asistieron 60 investigadores de 16 diferentes países y los trabajos presentados se encuadraron en dos temas generales, uno de los cuales era el influjo de los factores externos sobre el contenido en principios de las plantas medicinales.

Por dar una idea de la heterogeneidad de los resultados que hasta hoy se conocen sobre el tema que nos ocupa, incluimos un telegráfico resumen en orden cronológico de las conclusiones aportadas por autores diversos en una serie de trabajos que seleccionamos entre los publicados en los últimos 20 años, referidos a plantas alcaloidicas que es el primer grupo a que después vamos a referirnos y uno de los que más han merecido la atención de los distintos investigadores.

Esdorn (11) en 1940 concluye que la Lobelia inflata es in-

fluenciada positivamente en su crecimiento por los abonados con N, P, K y Ca y negativamente en cuanto a su contenido alcaloídico.

En el mismo año Sandfort (32) estima que la riqueza en alcaloides aumenta en la *Datura stramonium* bajo el efecto de nutrientes y en la misma especie, así como en la *Atropa belladonna*, Cromwell (9) observa en 1943 un efecto favorable debido a la presencia de arginina, examina, putresina y formamol, en la solución nutritiva. Por su parte James (16) en 1947 estima que el nitrógeno tiene un efecto muy favorable sobre el contenido alcaloídico de la belladona: P, K, Ca y Mg no causan efecto alguno aunque el P, y el K, en concentraciones demasiado elevadas tienden a producir efectos adversos.

También Hoffmann (15) en 1949 se ocupó de la influencia de los abonados en la producción de alcaloides por la belladona así como por la *Lobelia inflata*, estimando que el nitrógeno y el fósforo influyen positivamente, mientras que el potasio lo hace en sentido negativo y en este mismo sentido actuarían los sesquioxidos a concentración elevada.

Manske y Holmes en su obra «The Alkaloids» (23) publicada en 1950 estiman que el N en forma de NO_3 no afecta al contenido alcaloídico, mientras en forma de NH_3 lo estimula, así como también el Ca y el P.

En 1950 Powson (28) atribuye al N un marcado efecto mientras que los elementos Ca, K, y P, lo tendrían muy leve, sobre la belladona. Sobre la misma especie Gstirner (14) encuentra que el N y el K influyen claramente en su contenido alcaloídico y no así el P. También sobre la belladona observan en 1950 Brewer y cols. (3) un incremento alcaloídico debido al N y al K, mientras que en el *Hyoscyamus niger* no obtiene dicho resultado.

Sobre diversas lobelias influye negativamente en su contenido alcaloídico el N, mientras que el K ejerce un efecto favorable, según refiere en 1951 Brandt (2).

Steinegger (33) en 1954 intentó observar la influencia de la penicilina sobre el crecimiento y riqueza alcaloídica de la *Datura*, estimando que, en este último aspecto la influencia era negativa.

Rowson (29) establece en 1954 que el N en forma de sulfato amónico, combinado con fertilizantes fosfóricos incrementa el contenido alcaloídico en la *Datura*.

Elzenga y cols. (11) trabajando con belladona llegan a la con-

clusión de que los abonos nitrogenados disminuyen el contenido alcaloídico, pero advierten que los resultados no son matemáticamente significativos. En cuanto a los abonados con K y P ha observado efectos variables.

Llevados de esta misma preocupación, hemos planteado nosotros a lo largo de varios años, las más diversas experiencias con plantas medicinales, procurando comprender en ellas los grupos de principios activos que mayor interés tienen para la Farmacognosia y la industria: alcaloides, grasas, ésteres, glucósidos y esencias. Publicadas ya gran parte de ellas, recogidas otras solamente en las Memorias anuales de la Sección, presentan en conjunto el interés de haber sido realizadas todas ellas sobre un mismo tipo de suelo, bajo las mismas condiciones y clima y utilizando, en general, los mismos métodos de análisis y siempre el mismo material genético, lo que les da una uniformidad de la que carecen en conjunto los numerosos ensayos planteados que se recogen en la literatura mundial, hecho que, como insistiremos más adelante, constituye uno de los principales obstáculos para poder comparar entre sí los resultados de los diversos autores.

Consideramos innecesario exponer con detalle la totalidad de la labor realizada; recogemos solamente los resúmenes de algunas de las experiencias planteadas, ocupándonos exclusivamente en ellas de la posible relación entre abonado y riqueza en principio activo, es decir, sin hacer referencia a otros aspectos tales como forma de siembra, rendimiento en materia verde, momento de la recolección, etc., cuyo estudio realizamos simultáneamente. Queremos hacer notar, sin embargo, que en la totalidad de las experiencias se aprecia una clara influencia positiva o depresiva del abonado, sobre el desarrollo de la planta, que debería acusar la riqueza en principio activo si es que existe dicha influencia; este hecho nos demuestra que, a pesar de operar sobre un suelo muy suelto y de fácil lavado y en contra de nuestros temores, el abono queda cuando menos en parte, retenido por el terreno, actuando sobre el crecimiento vegetal.

El criterio seguido en la selección de las experiencias que exponemos no ha sido, como es lógico, el de reunir aquellas que concordaban en sus resultados, con desprecio de las que podían suponer una contradicción, sino que hemos tomado ejemplos de los distintos campos de la Farmacognosia, repitiendo, en ocasiones, ensayos con las mismas plantas en distintos años, bien para poner

en evidencia los resultados obtenidos en diferentes experiencias con el mismo abonado bien por el contrario, para demostrar el efecto sobre ellas de diferentes tratamientos.

Hemos considerado de interés recoger, como elemento de comparación, diversas experiencias planteadas por Madueño y colaboradores, por haber sido efectuadas por el Servicio de Plantas Medicinales o dentro del mismo Instituto de Farmacognosia, precisamente sobre la misma parcela en que realizamos nosotros las nuestras. Nos limitamos en este caso a un breve comentario y exposición de resultados y realizamos un estudio crítico que, no siempre nos lleva a un acuerdo total en las conclusiones con dichos autores, porque las diferencias de riquezas que consideran significativas no tienen tal significación examinadas con objetividad.

PLANTAS CUYOS PRINCIPIOS ACTIVOS SON ALCALOIDES

Belladonna (Atropa Belladonna L.).—Madueño (19) da cuenta de una experiencia realizada en los años 1943 y 1944 acerca de la influencia de abonados sobre la riqueza en alcaloides de la belladona.

Adjunto transcribimos el cuadro número 1, que recoge los resultados obtenidos en los dos cortes realizados con muestras testigos y abonadas en diversas formas.

TABLA N.º 1

TRATAMIENTOS	Kg/Ha de abono	1.ª muestra 8 de junio	2.ª muestra 30 de julio
Sin abono	>	0,3737	0,5635
Superfosfato de cal	500	0,3113	0,4768
Sulfato potásico	200	0,3228	0,4385
Sulfato amónico	300		
Superfosfato de cal	500	0,3164	0,4443
Sulfato potásico	200		
Sulfato amónico	300	0,3626	0,5837
Superfosfato de cal	500	0,3424	0,3959
Sulfato amónico	300		
Sulfato potásico	200	0,2470	0,2991
Sulfato amónico	300		

«Como se ve —dice el autor—, del primer corte no se deduce ninguna conclusión, pues las parcelas testigos dan más riqueza en alcaloides que las abonadas. En el segundo sólo se observa un aumento del 0,02 por 100 en las parcelas abonadas con sulfato amónico. Es extraño que en el caso de fórmulas en las que interviene el sulfato amónico los resultados sean negativos, mientras que actuando sola esta sal se observa el ligero aumento indicado. También es digno de señalarse que los rendimientos más bajos en ambos cortes corresponden a las parcelas abonadas con fosfórico, potasa y nitrógeno. En definitiva si bien parece vislumbrarse una acción favorable del sulfato amónico sobre la formación de alcaloides, los resultados son demasiado confusos para que pueda deducirse de ello una conclusión clara.»

Este comentario hace innecesario cualquier otro que nosotros pudiéramos añadir.

Después se hace un estudio comparativo de los abonados con sulfato amónico y con nitrato sódico, por separado, cuyos resultados también reproducimos (cuadro núm. 2).

TABLA N.º 2

TRATAMIENTOS	Kg /Ha. de abono	1.ª muestra 27 de julio	2.ª muestra 7 septiembre
A) Sin abono	0,0566	0,4128
B) Abonado con sulfato amónico	250	0,1448	0,1689
C) Idem con nitrato sódico.	300	0,1050	0,2909

«En el efecto de los diversos abonados sobre la formación de alcaloides en la hoja de belladona —concluye el autor— no se ha deducido ninguna conclusión clara».

Los resultados aparecen con cuatro decimales, de las que sobran al menos las dos últimas e incluso la segunda es dudosa. Por otra parte, el método seguido, además de realizar la valoración con el anticuado indicador tintura de cochinilla, no nos merece gran confianza, pese al mérito indiscutible del autor que lo propuso en una época en que en nuestra patria, apenas reintegrada a las tareas de la paz, se imponía una restricción en el consumo de disolventes orgánicos.

Por ello, las contradicciones en ciertos datos que ya Madueño

calificaba de extraños, no pueden, a nuestro juicio, ser tomadas en consideración.

Sea como fuere, es lo cierto que no ha habido en la experiencia conclusión clara alguna respecto a influencias de abonados en producción de alcaloides.

* * *

Estramonio (Datura Stramonium L.).—En el año 1940 se iniciaron en la parcela de la Casa de Campo unos estudios de cultivo del estramonio (19) que siguieron en años sucesivos, comparándose las variedades de flor blanca de cápsula espinosa y de cápsula inerme junto con la influencia por separado del superfosfato de cal, sulfato potásico y sulfato amónico.

En los años 1942 y 1943 se determinaron las riquezas en alcaloides totales de las diferentes muestras.

Se compararon, asimismo, muestras cultivadas en secano y en regadío, haciendo dos recolecciones con aquellas y tres con estas, en las que, además, se trató de estudiar la influencia de extirpación de las flores. También se comprueba la influencia de recolectar en la mañana o en la tarde.

En estas experiencias parece concluirse que los abonos nitrogenados han influenciado positivamente el contenido alcaloídico; sin embargo, como puede apreciarse en el adjunto cuadro número 3 que transcribimos, dicha influencia parece clara en unos casos, poco convincente en otros e incluso no existe en más de uno. Ello revela contradicciones que, junto con la falta de repeticiones en el planteamiento de la experiencia, ausencia de datos respecto a la desecación que tanta influencia tiene en el rendimiento final en principios activos y deficiencia del método de valoración empleado (Farmacopea Española, VIII), obliga, en conjunto, a tomar dicha conclusión en poca consideración.

TABLA N° 3

SECANO			REGADIO					
Trata- miento	1. ^a muestra 15 Junio	2. ^a muestra 24 julio	Con extirpación de flores			Sin extirpación de flores		
			1. ^a	2. ^a	3. ^a	1. ^a	2. ^a	3. ^a
			Muestra 15 de Julio	Muestra 24 de Julio	Muestra 3 septbr.	Muestra 15 junio	Muestra 24 julio	Muestra 3 septbre.
T	0,1452	0,2181	0,3150	0,3633	0,3085	0,1726	0,2716	0,2279
A	n. s.	n. s.	—	n. s.	0,3297	n. s.	n. s.	0,2517
B	n. s.	n. s.	—	n. s.	0,3933	n. s.	n. s.	0,2306
C	0,1844	n. s.	0,3389	n. s.	0,4482	0,2455	n. s.	0,3000

T = Sin abono.

A = 500 Kg por Ha. de superfosfato de cal.

B = 200 Kg por Ha. de sulfato potásico.

C = 300 Kg por Ha. de sulfato amónico.

n. s. = no significativa.

* * *

En el año 1945 dan cuenta Madueño y Abad (21) de los resultados de la experiencia efectuada en nuestra parcela durante 1940, con estramonio, para estudiar la influencia del abonado con nitrato sódico en distintas cantidades, sobre la producción de hoja y de alcaloides.

Transcribimos el esquema adjunto que refleja el planteamiento de la experiencia.

A=0 Kgs/Ha.; B=200 Kgs/Ha.; C=300 Kgs/Ha.; D=400 Kgs/Ha.

E=500 Kgs/Ha.

A	34	A	17
D	33	E	16
E	32	C	15
A	31	B	14
C	30	A	13
B	29	D	12
C	28	B	11
E	27	A	10
B	26	C	9
D	25	E	8
A	24	D	7
B	23	C	6
A	22	E	5
C	21	B	4
E	20	D	3
D	19	A	2
A	18	A	1

TABLA N.º 4

Series	TRATAMIENTOS				
	A	B	C	D	E
1	0,4018	0,4116	0,4319	0,4941	0,3828
2	0,4362	0,4927	0,3734	0,4074	0,4074
3	0,4263	0,4074	0,4842	0,4074	0,3828
4	0,4970	0,4255	0,4018	0,4018	0,3800
5	0,3800	0,4276	0,3803	0,4999	0,3988
6	0,4291	0,3846	0,4320	0,4421	0,4001
S	2,5804	2,5464	2,5036	2,6527	2,3519
M	0,4300	0,4249	0,4172	0,4421	0,3919

Realizaron dos cortes: el primero a fines de julio y el segundo cuarenta y dos días después.

Los datos obtenidos en la determinación de alcaloides —que solamente realizaron en el primer corte— figuran en el cuadro número 4.

«Determinada la riqueza alcaloídica de la planta, correspon-

diente al primer corte —escriben los autores— no resultaron estadísticamente significativas las cifras obtenidas; si bien parece deducirse de ellas que sólo la dosis de nitrato sódico equivalente a 400 Kgs/Ha. produjo un incremento del 0,0121 por 100 respecto a los porcentajes de las plantas testigo».

Como único comentario, sólo diremos que realmente los datos no merecían siquiera la realización de cálculo estadístico alguno, pues las cifras decimales tercera y cuarta no pueden en absoluto ser consideradas, toda vez que la segunda —más aún con el método de valoración empleado— es muy dudosa y, por tanto, el ínfimo incremento aludido del 0,0121 por 100 no puede, en manera alguna, consignarse.

* * *

En 1948 aparece un trabajo en el que Mandueño (20) resume previamente las conclusiones obtenidas en experiencias similares planteadas en los años 1944-45 y 1945-46, que en lo que respecta a nuestro problema de la influencia del abonado sobre producción de alcaloides, son:

En 1944-45, resulta más conveniente el sulfato amónico (excepto en la primera recolección de la variedad espinosa). En 1945-46, por el contrario, parece mejor el nitrato sódico para las tres variedades estudiadas y en las tres recolecciones. La contradicción mutua, así como con otras experiencias, es evidente, y por otra parte, no hemos podido examinar los datos analíticos para percatarnos de qué significación real tiene la afirmación.

Se refieren, después, los resultados de una experiencia iniciada en 1946, con el fin de estudiar, una vez más, la acción de los abonados nitrato sódico y sulfato amónico sobre las tres variedades de estramonio, a' tiempo que se comparaban estas entre sí y la evolución de la riqueza alcaloídica a lo largo del año. Para esto último se han efectuado en todas las eras y variedades seis recolecciones: la primera a mediados de julio y las siguientes con intervalos de quince días, determinando la riqueza alcaloídica en cada una de ellas.

De la distribución de los abonos y variedades en el campo, da idea el croquis siguiente:

A	B	C	A	B	C	A	B	C
E	E	S	I	I	I	M	M	M
18	17	16	15	14	13	12	11	10
B	C	A	A	C	B	C	B	A
1	1	1	M	M	M	E	E	P
9	8	7	6	5	4	3	2	1

A = Testigo.

B = 400 Kgs/Ha. de nitrato sódico.

C = 300 Kgs/Ha. de sulfato amónico.

E = Variedad espinosa.

I = Variedad inerme.

M = Variedad morada.

En el cuadro número 5 que insertamos a continuación hemos reunido los resultados que da el autor.

TABLA N.º 5

Mues.	Abonado con NO_3Na			Abonado con $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$			Sin abono		
	E	I	M	E	I	M	E	I	M
1	0,28	0,46	0,37	0,35	0,43	0,41	0,22	0,39	0,34
2	0,14	0,47	0,40	0,36	0,44	0,42	0,35	0,44	0,44
3	0,25	0,43	0,46	0,31	0,35	0,33	0,28	0,42	0,31
4	0,31	0,36	0,35	0,30	0,28	0,37	0,28	0,32	0,33
5	0,29	0,32	0,26	0,21	0,16	0,28	0,29	0,24	0,22
6	0,21	0,18	0,17	0,17	0,17	0,19	0,21	0,21	0,20
Tls.	1,78	2,22	2,02	1,70	1,83	2,00	1,63	2,02	1,84
Mls.	0,30	0,34	0,34	0,28	0,31	0,33	0,27	0,34	0,31

Puede observarse que la influencia de los abonados, en comparación con las eras testigos, considerada aisladamente en cada recolección, llevaría a conclusiones muy variadas y contradictorias, imposible, por tanto, de coordinar. Por ello, hemos hallado, para cada variedad y tratamiento, la media de los resultados obtenidos en las seis recolecciones.

Las diferencias entre dichas cifras medias del contenido alcalóidico, dentro de cada variedad, no pueden, en absoluto, considerarse sinificativas, menos aún con el procedimiento de valoración empleado, similar al de nuestra Farmacopea, VIII edición.

Para mayor comodidad en el cotejo de dichas cifras, damos el cuadro siguiente:

TABLA N.º 6

Tratamientos	Variedades		
	E	I	M
Sin abono	0,27 %	0,34 %	0,31 %
NO ₃ Na	0,30 %	0,37 %	0,34 %
SO ₄ (NH ₄) ₂	0,28 %	0,31 %	0,33 %

* * *

Lobelia (Lobelia inflata L.)—En la obra «Cinco años de labor» (19), se da cuenta de la experiencia realizada en nuestra parcela con esta planta, y en la que se estudia la influencia de abonados sobre la riqueza en alcaloides, así como sobre la producción de droga.

La disposición de la experiencia en el campo y los abonados empleados se detallan a continuación:

1.ª Serie	T 20	PKN 19	PK 18	N 17
2.ª Serie	N 16	PK 15	PKN 14	T 13
3.ª Serie	PKN 12	T 11	PK 10	N 9
4.ª Serie	PK 8	N 7	T 6	PKN 5
5.ª Serie	N 4	PKN 3	T 2	PK 1

T = Testigo.

N = Abonado con nitrato sódico.

PK = Abonado con superfosfato de cal y sulfato potásico.

PKN = Abonado completo.

La recolección de la sumidad se realizó a primeros de julio, cuando la floración se había generalizado por completo, observándose la presencia de algunos frutos.

Realizada la valoración de los alcaloides en las diferentes muestras, se obtienen para cada tratamiento las cifras medias que recoge el cuadro número 7.

Ha de concluirse, por tanto, que la influencia de abonados en la producción alcaloídica ha sido totalmente nula.

TABLA N.º 7

	Por 100 de alcaloide
Sin abono	0,2902
Nitrato sódico	0,3932
Superfosfato de cal	} 0,3014
Sulfato potásico	
Superfosfato de cal	} 0,3022
Sulfato potásico	
Nitrato sodico	

* * *

Cápsulas de adormideras (Papaver somniferum).—En el número anterior de esta Revista (7) hemos dado a conocer una experiencia (4.^a de una serie sobre el estudio de esta droga) en la que al tiempo que cultivábamos las variedades agrícolas «Eckendorf» y «Española» para compararlas entre sí, intentábamos observar en ambas la posible influencia de los abonados con sulfato amónico y con mezcla de superfosfato y del anterior.

Planteada la experiencia en el campo según el esquema adjunto

At. 23	Ess. 24	Es. 25	Ass. 26	As. 27	As. 28	Et. 29	Es. 30
As. 15	Et. 16	Ass, 17	Es. 18	At. 19	Ass. 20	At. 21	Ess. 22
Ass, 8	Ess. 9	As. 10	Et. 11	Es. 12	At. 13	Ass. 14	
Et. 1	Es. 2	At. 3	Ess. 4	Ess. 5	Et. 6	As. 7	

Las dos variedades fueron sometidas a los siguientes tratamientos de abonados:

A = Española.

T = testigo.

E = Eckendorf.

S = 500 Kg de sulfato amónico

SS = S + 500 kg de superfosfato por Ha.

y realizada la recolección cuando el color amarillo de las cápsulas indicaba su madurez fisiológica, se desecaron extendidas sobre el terreno de cultivo, sin cuidados especiales, o sea en condiciones análogas a como lo haría cualquier agricultor.

Se valoró la morfina en las diversas muestras mediante la técnica fotocolorimétrica puesta a punto por uno de nosotros (8), basada en la reacción amarilla de la nitrosomorfina.

Para cada tratamiento, se obtienen las cifras medias reunidas en la

TABLA N.º 8

	Tratamiento	Morfina % (caps. anhidra)
var. Eckendorf	T	0,71 ± 0,055
	S	0,70 ± 0,042
	SS	0,72 ± 0,048
var. Española	T	0,43 ± 0,037
	S	0,43 ± 0,022
	SS	0,46 ± 0,036

Claramente se aprecia, la ausencia de influencia alguna de los abonados empleados, sobre la riqueza en morfina de las cápsulas.

* * *

Hemos de concluir, pues, que en ninguna de las experiencias expuestas trabajando con plantas alcaloidicas, han ejercido influencia en el contenido de alcaloides, los abonos empleados. Estos han sido, como se han podido apreciar, superfosfato de Ca, SO_4K_2 , $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ y NO_3Na , por separado unas veces y asociando dos ó mas de ellos en otras ocasiones.

(Continuará)