

CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE ROMERO (*ROSMARINUS OFFICINALIS* L.) Y EVALUACIÓN *IN VITRO* DE SU ACTIVIDAD ACARICIDA

Carlos R. Romeu, Eleazar Botta Ferret y Yunaisy Díaz Finalé

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5.^a B y 5.^a F, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba, CP 11600, teléf. 53(7)2084416, fax 53(7)2029366, gdierksmeier@inisav.cu; ebotta@inisav.cu; yfinale@inisav.cu

RESUMEN

Se caracterizó y evaluó el efecto acaricida del aceite esencial de romero sobre la especie de ácaro fitófago *Tetranychus tumidus* Banks, en un experimento de laboratorio, donde se probaron diferentes dosis y forma de aplicación del producto. Los tratamientos con aceite de romero a dosis de 0,25%; 0,50% y 0,75% de i.a. por aspersión y 0,75% de i.a. por inmersión, provocaron el 100% de mortalidad a las 48 h de aplicados. Los tratamientos por inmersión a 0,25% y 0,50% i.a. tuvieron un efecto de mortalidad un poco más lento, con valores cercanos al 100% de mortalidad a las 72 h de aplicados. Los componentes mayoritarios encontrados fueron 1,8 cineol (21,5%), alcanfor (18,0%) y alfa pineno (15,3%).

Palabras claves: *Rosmarinus officinalis*, *Teranychus tumidus*, aceite esencial, acaricida

ABSTRACT

The acaricide effect of rosemary essential oil was characterized and evaluated on acari *Tetranychus tumidus* Banks. A laboratory experiment to test different dose and application form of the product was developed. Treatments with rosemary oil at 0.25%, 0.50% and 0.75% a.i. by aspersión and 0.75% a.i. by immersion caused a mortality of 100% in 48 hours; immersion treatments at 0.25% and 0.50% a.i. were near to 100% of mortality 72 hours later. Main components found were cineol (21.5%), camphor (18.0%) and alfa pineno (15.3%).

Key words: *Rosmarinus officinalis*, *Teranychus tumidus*, essential oil, acaricid

INTRODUCCIÓN

Los rendimientos de las producciones de plátanos y bananos con frecuencia son afectados por la ocurrencia de plagas durante el ciclo productivo de las plantaciones. Los ácaros tetránicos están ubicados entre las especies de artrópodos que mayores afectaciones pueden ocasionar en este cultivo. Simón (1990) elaboró el listado de fitoácaros pertenecientes a la familia Tetranychidae, más difundidos en el mundo sobre el follaje de estas plantas, entre los que se citan a *Tetranychus urticae* Koch, *T. desertorum* Banks, *T. gloveri* Banks = *T. tumidus* Banks y *T. lombi* Pritchard y Baker. De ellas *T. tumidus* pudo causar serios daños a los sistemas foliares del banano en las Antillas Francesas, y se consideró como la tercera plaga de interés para este cultivo en las Indias Occidentales Francesas.

En Cuba coexisten diferentes sistemas productivos de plátanos y bananos, que van desde el sistema tradicional y la obtención de semillas a través del cultivo *in*

vitro, hasta el método extradenso que permite un aumento de los rendimientos en menores áreas con una mayor densidad de siembra [Minagri, 2004]; sin embargo, ninguno se encuentra exento del peligro de sufrir el ataque de *T. tumidus* y, aunque este fitófago se ha estudiado bien y se han generalizado programas de manejo integrado basados en el uso de los pronósticos de condiciones favorables para el desarrollo de sus poblaciones, la liberación de diferentes medios de control biológico y la optimización de los tipos y dosis de plaguicidas químicos [Pérez *et al.*, 2004; Almaguel *et al.*, 2000], es necesario mantener la búsqueda de nuevas sustancias menos agresivas que ejerzan un control efectivo de este artrópodo y puedan insertarse en los modelos MIP.

El uso de extractos vegetales o insecticidas botánicos para el control de plagas agrícolas es una práctica ancestral que data de al menos dos milenios, en antiguas

civilizaciones como las de China, Egipto, Grecia e India [Thacker, 2002]. Cada año es mayor el número de plantas que se estudian con esta finalidad y el de formulaciones comerciales que se presentan en los mercados. En una revisión sobre el tema realizada por Isman (2006) se incluye un amplio listado de naciones que utilizan en sus sistemas agrícolas al menos uno de los compuestos naturales —piretro, rotenona, nicotina o azadiractina—, lo que indica, sin duda, que las perspectivas de uso de estos insecticidas vegetales son muy prometedoras, fundamentalmente para las áreas de pequeños productores o urbanas donde se justifique económica y ecológicamente su uso.

Por todas estas razones se hizo necesaria la caracterización de el aceite esencial de romero (*R. officinalis*) y la evaluación de su efecto acaricida sobre la especie fitófaga *T. tumidus* en condiciones controladas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para caracterizar el aceite esencial se analizó por cromatografía gaseosa (GC) acoplada a un espectrómetro de masas equipado con un detector selectivo de masas HP-5973. Se utilizó una columna SPB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) con una programación de

temperatura para el horno de 60°C (2 min), 4°C/min hasta 250°C (20 min), y helio como gas portador con un flujo de 1 mL/min. La temperatura del inyector y detector fue de 250°C. La inyección se realizó en el modo *split* (1:10).

La cuantificación de los componentes se hizo por normalización interna a partir de la integración electrónica de las áreas, y se consideraron los factores de respuestas unitarios para todos los componentes. El detector funcionó en el modo de impacto electrónico (70 eV) a 230°C. La detección se efectuó en el modo *scan* entre 35 y 400 uma. Los componentes se identificaron por comparación de sus espectros de masas con los compilados en la base de datos NIST 98, SZTERP o la propia IDENT, así como por comparación de los índices de retención cromatográficos con los de sustancias patrones. Se comprobaron además los espectros de masas con los publicados por Adams (1995).

Para la evaluación de la actividad acaricida del aceite esencial del romero sobre *T. tumidus* se utilizaron discos de hojas de plátano de 5 cm de diámetro, situados sobre algodón húmedo contenido en placas Petri. Se colocaron 10 hembras adultas fecundadas de *T. tumidus* en cada disco de plátano y se sometieron a los diferentes tratamientos (*Tabla 1*).

Tabla 1. Productos, dosis y variantes de aplicación

Variante	Producto	Dosis (% de i.a.)	Modo de aplicación
I	Aceite esencial de romero	0,25	Inmersión
II		0,50	
III		0,75	
IV		0,25	Aspersión
V		0,50	
VI		0,75	
VII	Dicofol	0,06	
VIII	Agua	—	

El producto se aplicó por el método de inmersión y por el de aspersión, este último con ayuda de un aspersor de mano de 1 L de capacidad, después de haber colocado los individuos. Para la aplicación del aceite esencial se preparó una formulación donde se disolvieron 5 g del aceite en 20 mL de n-hexano, se le adicionaron 10 mL de emulsificante y 1 mL de adherente. La mezcla se agitó y se completó el volumen con n-hexano hasta 50 mL.

Cada tratamiento se replicó cinco veces y se realizaron observaciones a las 24, 48 y 72 h, en las que se contabilizaron los individuos vivos y muertos, y se determinó la mortalidad acumulada.

El diseño empleado fue completamente aleatorizado. El procesamiento estadístico se realizó a partir de la normalización de los datos con la fórmula $\sqrt{x+1}$, y se compararon las medias por la dística de Newman Keuls con ayuda del paquete estadístico Analest, versión 2.0 (1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los componentes mayoritarios en la composición del aceite esencial de *R. officinalis* fueron 1,8 cineol, alcanfor y alfa pineno (Tabla 2). Estos resultados coinciden con reportes publicados internacionalmente. Estudios en España mostraron que los metabolitos que se encontraron en el aceite esencial de romero en mayor proporción fueron precisamente alfa-pineno, 1,8 cineol, alcanfor y además verbenona, y borneol [Santoyo *et al.*, 2005].

Tabla 2. Composición del aceite esencial de romero (*R. officinalis*)

Componente	Por ciento
Alfa pineno	15,3
Camfeno	5,7
Mirceno	4,9
Limoneno	3,7
1,8 cineol	21,5
Alcanfor	18,0
Borneol	3,7
Cariofileno	3,4

Touafek *et al.* (2004) analizaron el aceite esencial de romero colectado en Argelia y encontraron que los me-

tabolitos principales fueron 1,8-cineol (29,5%), 2-etil-4,5-dimetilfenol (12,0%) y alcanfor (11,5%). Otros reportes indican que en Italia los componentes principales fueron alfa-pineno, borneol, (-)-canfeno, alcanfor, verbenona, y acetato de bornilo [Angioni *et al.*, 2004]. Estudios realizados en Túnez demostraron que la composición varía con la variedad y las condiciones climáticas. Entre las diferentes poblaciones existieron variaciones significativas en cuanto a la proporción de los metabolitos, aunque 1,8-cineol (20,34-45,79%), alcanfor (8,5-30,17%), alfa-pineno (6,53-13,1%) y borneol (3,73-25%) fueron los que con más frecuencia se encontraron [Zaouali *et al.*, 2005].

Se debe destacar que tanto el 1,8 cineol como el alcanfor están registrados por su actividad acaricida, e incluso forman parte de la composición de formulados comerciales para el control del ácaro *Varroa jacobsoni* Oud., plaga que afecta los colmenares y que constituye un factor de disminución de las producciones de miel de abeja [Higes *et al.*, 1997].

El análisis de la mortalidad acumulada a las 24, 48 y 72 h de realizados los tratamientos demostró que el aceite de romero ejerce un control efectivo del ácaro *T. tumidus* en condiciones *in vitro* (Tabla 3).

Tabla 3. Mortalidad acumulada de *T. tumidus* a las 24, 48 y 72 h de realizados los tratamientos con aceite esencial de romero (*R. officinalis*)

Variante	Muertos		
	24 h	48 h	72 h
I	5,6 b	7,6 a	8,6 b
II	5,8 b	9,0 a	10,6 a
III	9,2 a	11,0 a	11,0 a
IV	10,0 a	11,0 a	11,0 a
V	7,6 ab	11,0 a	11,0 a
VI	8,8 a	10,0 a	11,0 a
VII	9,6 a	11,0 a	11,0 a
VIII	1,0 c	4,4 b	3,0 c
C.V (%)	11,9	15,27	5,58
E.S.	0,14	0,21	0,08

En todo momento las aplicaciones de aceite de romero provocaron mortalidad similar a la producida por el testigo positivo utilizado (dicofol). Durante la evaluación realizada a las 24 h se observó que los tratamientos por aspersión y la dosis mayor utilizada por inmersión no se diferenciaron estadísticamente del testigo químico; sin embargo, a las 48 h todas las variantes experimentales provocaron altos niveles de mortalidad.

Todo indica que los tratamientos fueron muy efectivos. Se alcanzó el 100% de mortalidad a las 48 h de aplicados en la mayoría de las variantes, excepto en los realizados por inmersión a dosis bajas (0,25 y 0,50%), donde los individuos demoraron más tiempo en morir, aunque las diferencias estadísticas observadas no fueron significativas. No obstante, a las 72 h solamente quedaron unos pocos ácaros vivos en la variante I (aceite de romero, inmersión a 0,25%).

Estos resultados coinciden con los de Madera County (2001), que utilizó un formulado a base de aceites esenciales, entre ellos el de romero en el cultivo de la uva, y obtuvo una elevada mortalidad del ácaro *T. pacificus* (Mc.Gregor) a las 72 h de aplicado el tratamiento, sin presentar diferencias significativas con el resto de los acaricidas evaluados. Al utilizar este producto el autor logró disminuir las poblaciones de 4,04 a 0,75 ninfas vivas por brote. En estudios con esta planta por Miresmailli *et al.* (2006) se demostró que el aceite esencial fue efectivo en el control de *T. urticae* en cultivos de frijol y tomate.

CONCLUSIONES

- Los componentes mayoritarios del aceite esencial de *R. officinalis* fueron 1,8 cineol con 21,5%, alcanfor con 18,0% y alfa pineno con 15,3%.
- Los tratamientos con aceite de romero a dosis de 0,25%; 0,50% y 0,75% de i.a. por aspersión y 0,75% de i.a. por inmersión provocan el 100% de mortalidad a las 48 h de aplicados.
- Los tratamientos por inmersión a 0,25% y 0,50% i.a. presentaron un efecto de mortalidad un poco más lento con valores cercanos a 100% a las 72 h de aplicados.

REFERENCIAS

- Adams, P. R.: *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy*, Ed. Amured Publishing Corp. Illinois, EE. UU., 1995.
- Almaguel, Lérica; R. Pérez; M. Ramos; Z. Martínez; J. Ovies; B. Roselló; M. Márquez; I. Suárez; E. Massó; R. Chico; E. Feito; J. Cortinas: «Generalización en Cuba del programa de manejo integrado del ácaro rojo *Tetranychus tumidus* en plátano», *Fitosanidad* 4 (3-4):93-98, 2000.
- Analest: *Estadística versión 2.0*, Instituto de Ciencia Animal, 1999.
- Angioni, A.; A. Barra; E. Cereti; D. Barile; J. D. Coisson; M. Arlorio; S. Dessi; V. Coroneo; P. Cabras: «Chemical Composition, Plant Genetic Differences, Antimicrobial and antifungal Activity Investigation of the Essential Oil of *Rosmarinus officinalis* L.», *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (11):3530-3535, 2004.
- Híges, M.; M. Suárez; J. Llorente: «Comparative Field Trials of Varroa Mite Control with Different Components of Essential Oils», *Research and reviews in Parasitology* 57(1):21-24, 1997.
- Isman, M.: «Botanical Insecticides, Deterrents, and Repellents in Modern Agriculture and an Increasingly Regulated World», *Annu. Rev. Entomol.* 51:45-66, 2006.
- Madera County: *Biorganic Crop Protection*. Disponible en www.biorganic.com (fecha de consulta: 2001).
- Minagri: «Tecnología de futuro. Una nueva concepción en la producción de plátano fruta y vianda en Cuba», Ministerio de la Agricultura, La Habana, 2004.
- Miresmailli, S.; R. Bradbury; M. B. Isman: «Comparative Toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil and Blends of its Major Constituents Against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on Two Different Host Plants», *Pest Management Science* 62 (4):366-371, 2006.
- Pérez, R., L. Almaguel; I. Cáceres; E. Feito; E. de la Torre: «Los depredadores de *Tetranychus tumidus* Banks en Cuba», *Fitosanidad* 8 (1):47-50, 2004.
- Santoyo, S.; S. Cavero; L. Jaime; E. Ibáñez; F. J. Senorans; G. Reglero: «Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil Obtained Via Supercritical Fluid Extraction», *Journal of Food Protection* 68 (4):790-795, 2005.
- Simón, S.: «Les acariens et les thrips sur bananier», *Fruit*, Institut de Recherches sur les Fruits et Argumes (número especial):72-76, 1990.
- Thacker, J. M. R.: *An Introduction to Arthropod Pest Control*. Cambridge Univ. Press, Inglaterra, 2002.
- Touafek, O.; A. Nacer; A. Kabouche; Z. Kabouche; C. Bruneau: «Chemical Composition of the Essential Oil of *Rosmarinus officinalis* Cultivated in the Algerian Sahara», *Chemistry of Natural Compounds* 40 (1):28-29, 2004.
- Zaouali, Y.; C. Messaoud; A. Ben Salah; M. Boussaid: «Oil Composition Variability Among Populations in Relationship with Their Ecological Areas in Tunisian *Rosmarinus officinalis* L.», *Flavour and Fragrance Journal* 20 (5):512-520, 2005.