

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD PLAGUICIDA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Melaleuca quinquenervia* (Cav) S.T. Blake

Oriela Pino*, Yaíma Sánchez*, Miriam M. Rojas*, Héctor Rodríguez*, Yudith Abreu*,
Yanisia Duarte*, Benedicto Martínez*, Belkis Peteira*, Teresa M. Correa**,
Dayamín Martínez**

* Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) Apartado 10, San José de las Lajas,
La Habana. Cuba. Correo electrónico: oriela@censa.edu.cu; **Laboratorio Anti-Doping,
Instituto de Medicina Deportiva (IMD). 100 y Aldabó, Boyeros, Ciudad de La Habana. Cuba

RESUMEN: Los aceites esenciales se destacan como productos con un rápido desarrollo y múltiples posibilidades de aplicación en la agricultura. *Melaleuca quinquenervia* (Cav) S.T. Blake, especie de la familia *Myrtaceae* productora de aceite esencial, posee propiedades medicinales e insecticidas; sin embargo, sus posibilidades de empleo en el control de plagas son de gran importancia en diferentes cultivos y deben ser aún investigadas. El objetivo de este trabajo fue determinar la composición química del aceite esencial de *M. quinquenervia* y su actividad acaricida y antimicrobiana frente a plagas agrícolas. El aceite esencial se obtuvo por hidrodestilación con equipo Clevenger, se determinó su rendimiento y su composición química se investigó por CG/EM. Se realizó la evaluación biológica frente a hongos, bacterias y ácaros. El aceite esencial de *M. quinquenervia* (rendimiento: 2,97 %, (v/p)) está compuesto mayoritariamente por longifoleno (32,95 %), 1,8-cineol (25,43 %), viridiflorol (7,76 %) y allo-aromadendreno (9,50 %). La esencia posee un efecto antifúngico promisorio frente a *Alternaria solani* Sor. y *Fusarium* sp.. La susceptibilidad de los aislados de este último fitopatógeno presentó diferencias, observándose la inhibición mayor frente al aislado F2. *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dawson fue la bacteria más sensible a la acción del aceite, frente a *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis *et al* se evidenció una actividad ligera solo a la mayor dosis evaluada. El efecto antibacteriano frente a *X. albilineans* fue superior al producido por el antibiótico control. El aceite esencial fue altamente tóxico a los ácaros provocando un 100 % de mortalidad a las hembras de *Tetranychus urticae* Koch, *Panonychus citri* y *Raoiella indica* Hirst y un 88,73 % a las de *Tetranychus tumidus* Banks. El aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia* posee potencialidades para el desarrollo de nuevos antimicrobianos y acaricidas para el control de plagas en hortalizas, cítricos y caña de azúcar.

(Palabras clave: *Melaleuca quinquenervia*; aceite esencial; ácaros; bacterias; hongos)

CHEMICAL COMPOSITION AND PESTICIDAL ACTIVITY OF *Melaleuca quinquenervia* (Cav) S.T. Blake ESSENTIAL OIL

ABSTRACT: Essential oils stand out as rapidly developing products and many applications in agriculture. *Melaleuca quinquenervia* (Cav) S.T. Blake, essential oil producer specie of the *Myrtaceae* family, has medicinal and insecticide properties, but its possibilities to be used in the control of pests in different crops are very important and must be further investigated. The aim of this work was to determine the chemical composition of *M. quinquenervia* essential oil and its acaricide and antimicrobial activity against agricultural pests. The essential oil was obtained by hydrodistillation using a Clevenger type-apparatus and the yield was determined. The chemical composition was investigated by GC/MS. Biological tests were conducted against fungi, bacteria and mites. The essential oil of *M. quinquenervia* (yield: 2,97% (v / p)) is mainly composed of longifolene (32,95 %), 1,8-cineole (25,43 %), viridiflorol (7,76 %) and allo-aromadendrene (9,50 %). The essence has a

promising antifungal effect against *Alternaria solani* Sor. and *Fusarium* sp.. The susceptibility of isolates of the latter plant pathogen showed differences with the greatest inhibition produced by F2. *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dawson was the most sensitive bacteria to the action of the oil, compared with *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis *et al* showed only a slight activity at the highest dose tested. The antibacterial effect against *X. albilineans* was superior to that produced by the control antibiotic. The essential oil was highly toxic to mite causing 100% of mortality against females of *Tetranychus urticae* Koch, *Panonychus citri* (McGregor) and *Raoiella indica* Hirst, and 88,73 % on *Tetranychus tumidus* Banks. The essential oil of *Melaleuca quinquenervia* has potential for the development of new antimicrobials and acaricides to control pests in vegetables, citrus and sugar cane.

(Key words: *Melaleuca quinquenervia*; essential oil; mite; bacteria; fungus)

INTRODUCCIÓN

Melaleuca quinquenervia (Cav) S.T. Blake (Myrtales: *Myrtaceae*) es un árbol originario de Australia. El nombre común mejor aceptado es melaleuca; sin embargo, también se conoce como árbol de la corteza de papel, cayeput y niaoulí. Esta especie se encuentra generalmente en bosques, arboledas o matorrales abiertos, particularmente a lo largo de arroyos y de los bordes de los pantanos; transforma el ecosistema al desplazar la vegetación típica de la zona y la fauna original (1). *M. quinquenervia* se introdujo en Cuba por la zona de Guamá en la Ciénaga de Zapata a finales de los años 50 o inicios de los 60 del siglo pasado y actualmente constituye una seria amenaza como especie invasora. Este árbol que tiene la propiedad de secar el terreno donde se siembra, disminuyendo el contenido de agua para las demás especies; se estima que infecta más de 40 mil hectáreas del humedal (2).

Las hojas de melaleuca pueden ser útiles para el tratamiento de la presión arterial alta, el herpes simplex y la inhibición de *Helicobacter pylori* (Marshall *et al.*) Goodwin *et al.* También pueden tener efectos hipoglucémicos y disminuir los niveles de azúcar en sangre. La población cubana utiliza esta planta pues le atribuye propiedades antiparasitarias, antisépticas, analgésicas, estimulantes e insecticidas; en la medicina tradicional es recomendada como antimalárica y/o antipirética, expectorante, antiséptico urinario, antihelmíntico, para el tratamiento del reumatismo y enfermedades de la piel (3). En Cuba, se ejecutaron investigaciones relacionadas con las posibles aplicaciones en el control de enfermedades en humanos y animales, como antimicrobiano y antimalárico (4, 5, 6).

El aceite esencial extraído de esta planta tiene actividad antihelmíntica, antimicrobiana, antifúngica, antiviral y como repelente de insectos (7, 8, 9). En nuestro país, se comprobó la acción insecticida de

este aceite en larvas de *Aedes aegypti* L. (10) y el efecto repelente sobre *Wasmannia auropunctata* (Roger) (*Hym. Formicidae*) (11).

Rodríguez realizó un estudio toxicológico de la administración del extracto fluido y del aceite esencial en ratas Wistar y no encontró signos clínicos, lesiones morfológicas, ni histológicas que evidenciaran efectos tóxicos (4).

En protección de plantas, los aceites esenciales se destacan como productos con un rápido desarrollo y posibilidades de aplicación en el tratamiento de semillas (caña de azúcar, hortalizas) y como plaguicidas (en cítricos, hortalizas y otros) (12). Sin embargo, las potencialidades del aceite de *M. quinquenervia* como candidato para el desarrollo de acaricidas y antimicrobianos destinados al control de plagas de importancia en diferentes cultivos deben ser aún investigadas. El objetivo de este trabajo fue determinar la composición química del aceite esencial de *M. quinquenervia* y su actividad acaricida y antimicrobiana frente a plagas agrícolas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención del aceite esencial

El material vegetal se recolectó en la Ciénaga de Zapata, en el mes de junio del año 2009. Las hojas sanas se secaron a la sombra a temperatura ambiente. La extracción se realizó por el método de hidrodestilación empleando un equipo Clevenger según lo establecido por la norma ISO 65-71:84 (13). El tiempo de destilación fue de tres horas. El aceite esencial se secó sobre sulfato de sodio anhidro (Fluka, PA) y se guardó a 8°C hasta su análisis.

Se calculó el rendimiento mediante la expresión:

$R = (V/M) * 100$; donde: R: rendimiento (%), V: volumen del aceite esencial (mL) y M: masa del material vegetal (g).

Determinación de la composición química

La composición química del aceite se determinó mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas. Se utilizó un cromatógrafo de gases de la serie Agilent 6890 con un inyector de tipo «split splitless» (relación de split 20:1), acoplado con un espectrómetro de masas de la serie Agilent 05973; ambos provenientes de la firma Agilent Technologies.

Se utilizó una columna capilar SPB-5 (L=15m, DI=0,25mm, f=0,10µm) con una inyección de 2 µL. La temperatura del horno fue programada: 60°C (2 min isotérmicos), seguido de una rampa de calentamiento hasta 100°C a razón de 4°C.min⁻¹, otra rampa de 10°C.min⁻¹ desde 100°C hasta 250°C donde finalmente permaneció durante 5 min isotérmicos. Se usó helio como gas portador con un flujo constante de 1,0 mL.min⁻¹.

El espectrómetro de masas trabajó en modo scan de adquisición a 70eV. Se utilizó un analizador cuadrupolar a 150°C de temperatura del cuadrupolo, el detector trabajó en un rango de masas de hasta 800 uma, las temperaturas de la interfase y de la fuente fueron 280°C y 230°C respectivamente.

La identificación de los compuestos se llevó a cabo mediante el uso combinado de las bases de datos automatizadas NBS-NISTASCI y Wiley 275.

Determinación de la actividad antifúngica

Se utilizaron los hongos fitopatógenos *Alternaria solani* Sor. y tres aislados de *Fusarium* sp. (F2, F3, F141) pertenecientes al cepario del Laboratorio de Micología Vegetal del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). *A. solani* y *Fusarium* sp. se sembraron en medio Agar Papa Dextrosa (Biocen) y se incubaron a 28°C durante 72 horas.

El efecto antifúngico por contacto directo del aceite se determinó empleando el método de discos de micelio. En cada placa se vertieron 10 mL de Agar Papa Dextrosa y se depositaron cuatro discos de papel de filtro Whatman 1 de 6 mm de diámetro de forma equidistante sobre el medio solidificado. Posteriormente, a cada disco se le añadieron 10 µL del aceite esencial y se empleó agua destilada estéril como control negativo. Por último, se colocó sobre cada disco de papel de filtro un disco de micelio. La temperatura y el tiempo de incubación fueron de 28°C y 72 horas respectivamente. Una vez transcurrido este tiempo se midió el diámetro de la colonia.

Determinación de la actividad antibacteriana

Se utilizaron las bacterias fitopatógenas *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dawson y *Clavibacter*

michiganensis subsp. *michiganensis* (Smith) Davis *et al.* pertenecientes al cepario del Laboratorio de Bacteriología Vegetal del CENSA. *X. albilineans* se sembró en medio Wilbrink (BDH) y se incubó a 28°C durante 48 horas, mientras que *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* se sembró sobre placas de agar nutriente (Biocen) y se incubó a la misma temperatura durante igual período de tiempo. Una vez activadas las bacterias en estudio, se prepararon suspensiones bacterianas, hasta lograr una concentración de inóculo de 1-2 x 10¹⁰ UFC.mL⁻¹, equivalente a una densidad óptica de 1, a una longitud de onda de 540 nm en un espectrofotómetro. De este inóculo se tomaron alícuotas de 20 µL y se colocaron en placas estériles con 20 mL del medio agarizado correspondiente para cada caso.

Para evaluar la sensibilidad de estos microorganismos al aceite esencial se empleó el método de difusión en agar según la técnica estandarizada por el Comité Nacional para Normas de Laboratorios Clínicos (NCCLS) (14), basada en el método de Kirby-Bauer. En cada placa, cuatro discos de papel de filtro Whatman 1 (diámetro: 6 mm) se depositaron de forma equidistante sobre el medio inoculado con las suspensiones bacterianas. Posteriormente, a dos de los discos se les añadió el aceite esencial (10; 5; 2,5 µL a cada disco) y los otros dos discos se emplearon como controles negativos. La temperatura y el tiempo de incubación fueron de 28°C y 48 horas respectivamente. Una vez transcurrido este tiempo se midió el halo de inhibición del crecimiento bacteriano. La evaluación se realizó por cuatuplicado y se empleó un control del crecimiento bacteriano y controles positivos de Kanamicina (10 µg.disco⁻¹) (MINSAP), antibiótico que produjo la mayor inhibición del crecimiento de cada bacteria en un estudio preliminar.

La actividad del aceite se clasificó en marcada (diámetro de inhibición ≥16 mm), moderada (12mm ≤ diámetro de inhibición < 16mm), ligera (8 mm ≤ diámetro de inhibición < 12mm) o sin actividad (diámetro de inhibición < 8 mm), según los rangos de la escala utilizada por Toda *et al.* (15). Los resultados de las diferentes dosis evaluadas se compararon a través de un análisis de varianza, empleando la prueba de rangos múltiples de Duncan y el paquete estadístico SAS 9.0.

Determinación de la actividad antiácaros

Se determinó la actividad antiácaro frente a *Tetranychus tumidus* Banks (Acari: Tetranychidae), *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), *Panonychus citri* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) y *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae). Los individuos utilizados en los ensayos de actividad biológica provenían de colonias mantenidas en el Laboratorio de

Acarología del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA, La Habana). Las especies fitófagas se criaron por el método de sobrevivencia sobre hojas en placas Petri o bandejas con algodón humedecido. *T. tumidus*, se crió sobre hojas de plátano (*Musa* sp. var. Ciento en boca), *T. urticae* sobre hojas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), *P. citri* sobre hojas de toronjo (*Citrus paradisi* Macf. var. Marsh) y *R. indica* sobre hojas de cocotero (*Cocos nucifera* L.). Para los bioensayos como material vegetal se utilizaron hojas maduras de estas mismas especies vegetales. El material vegetal, empleado en el mantenimiento de la crías y los bioensayos, provino de plantas libres de aplicaciones de plaguicidas existentes en las áreas del CENSA.

Todos los ensayos se realizaron en condiciones de laboratorio, a $22,33 \pm 2,86^\circ\text{C}$ de temperatura, $69,41 \pm 10,48\%$ de humedad relativa, medidas con un Termohigrómetro digital (Testo 608-H2) y fotoperíodo natural, en el período comprendido entre noviembre de 2009 y mayo de 2010.

El efecto acaricida del aceite esencial al 2,5% se evaluó sobre las hembras. En el caso de *T. tumidus*, *T. urticae* y *P. citri* se utilizó el método de microinmersión (16); mientras que para *R. indica*, se empleó el método de aspersión. Como unidades experimentales se utilizaron placas Petri de 9 cm de diámetro con algodón humedecido en su interior. Sobre el algodón se colocaron secciones de hojas de 5 cm de diámetro con una pequeña parte del nervio central con el envés hacia arriba.

Se determinó la mortalidad bajo un estereomicroscopio Zeiss Stemi SV-6 a las 24 horas de efectuada la aplicación. Las hembras se consideraron muertas si no movían las patas, al ser tocadas con un pincel 00. Todos los tratamientos se replicaron cuatro veces, con 25 hembras por placa Petri, para un total de 100 ácaros por tratamiento aproximadamente.

Se estableció un control, en el cual los ácaros fueron tratados con una mezcla acuosa de dimetilsulfóxido (DMSO, Fluka, PA) al 5% y Tween 20 (LobaChemie, PA) al 1%. Cuando la mortalidad en el control fue inferior al 10%, se usó la fórmula de Abbott para corregir la mortalidad de los tratamientos y cuando fue superior al 10% se desechó el ensayo.

Se realizó una comparación múltiple de proporciones con los porcentajes de mortalidad calculados para las cuatro especies de ácaros evaluados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aceite de *M. quinquenervia* se obtuvo con un rendimiento de 2,97 % (v/p). En poblaciones australianas

de *M. quinquenervia* se identificaron dos regiones, según la localización geográfica, con valores de rendimientos característicos; árboles ubicados a latitudes al sur de 25°S tienen rendimientos altos del aceite (1-3%, hojas frescas); mientras que al norte de 25°S son uniformemente bajos (0,1-0,2%) (17). En relación con estos valores el rendimiento del proceso de extracción ejecutado en nuestro estudio se corresponde con los valores más altos obtenidos para la especie.

Los aceites esenciales, al igual que la mayoría de los metabolitos secundarios, tienen muy bajos rendimientos, precisamente por formar parte del metabolismo secundario de las plantas y desarrollar funciones específicas dentro de estas. El rendimiento mínimo recomendado para la explotación comercial de un aceite es 0,1%, con excepción del aceite de rosa, de bálsamo de limón y otros pocos (20); y se plantea que aceites esenciales con más de un 1% de rendimiento se pueden obtener en cantidades suficientes para su comercialización a gran escala (21).

El rendimiento es un criterio importante que se requiere para determinar la factibilidad técnico-económica del proceso tecnológico asociado a la obtención de un producto basado en aceites esenciales; considerando que el valor del rendimiento de la esencia de *M. quinquenervia* en el presente trabajo es superior al 1% el aceite tiene potencialidad para el desarrollo de un producto cuya obtención sea económicamente factible. Este parámetro es de gran importancia en la producción del aceite para su aplicación práctica, como indicador específico para el control de la calidad del proceso.

La identificación de los componentes del aceite esencial de *M. quinquenervia* y sus cantidades relativas se informan en la Tabla 1.

En el aceite esencial de melaleuca se identificaron 30 componentes; de ellos, 5 son hidrocarburos monoterpénicos (3,94%), 11 terpenos oxigenados (41,14%) y siete hidrocarburos sesquiterpénicos (45,16%) los que representan la mayor proporción desde el punto de vista cuantitativo en el aceite esencial. Los componentes mayoritarios fueron el hidrocarburo sesquiterpénico, longifoleno (32,95%) y el monoterpeno oxigenado 1,8-cineol, (25,43%); se puede considerar la presencia de allo-aromadendreno (9,50%) y viridiflorol (7,76%). (Figura 1).

Existen diferentes quimiotipos de *Melaleuca quinquenervia*. Los aceites obtenidos a partir de este árbol en Australia y Papua Nueva Guinea han mostrado una amplia variación en su composición química y la presencia de dos quimiotipos (17). El aceite del quimiotipo 1 contiene *E*-nerolidol (74-95%) y linalol (14-30%) y se

TABLA 1. Composición química del aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia*./ *Chemical composition of Melaleuca quinquenervia essential oil*

Pico	t _r (min)	Abundancia relativa (%)*	Identificación
1	2,502	2,31	α pineno
2	2,690	0,12	canfeno
3	2,915	0,33	benzaldehído
4	3,224	1,11	β pineno
5	4,712	25,43	1,8-cineol
6	5,108	0,30	δ terpineno
7	5,800	0,10	terpinoleno
8	6,204	0,18	linalool
9	7,351	0,13	isopulegol
10	8,018	0,11	(-)-α-terpineol (p-menth-1-en-8-ol)
11	8,364	0,57	terpinen-4-ol
12	9,006	2,94	(+)-α-terpineol (p-menth-1-en-8-ol)
13	9,035	0,14	(+/-)-α-metilbencil acetato
14	13,521	3,57	α-terpineol acetato
15	13,617	0,21	eugenol
16	17,194	1,43	óxido cariofileno
17	17,481	7,76	viridiflorol
18	17,594	9,50	allo-aromadendreno
19	17,799	32,95	longifoleno
20	17,836	0,92	ledol
21	17,861	0,35	guaieno
22	17,906	0,25	7-metil-3,4,5,6,7,8-hexahidronaftalen-1(2H)ona
23	17,961	0,63	α-elemeno
24	17,998	0,60	β-maalieno
25	18,048	0,45	10,10-dimetil-2,6-dimetilenbicyclo(7.2.0)-undecan-5-β-ol
26	18,094	0,96	δ-cadineno
27	18,211	1,18	β-eudesmol
28	18,265	1,71	t-muurolol
29	18,353	0,17	viridifloreño (ledeno)
30	18,398	0,22	17-acetoxi-19-kauranal

t_r(tiempo de retención)

*presenta la identificación de los compuestos presentes en el aceite con una abundancia relativa mayor que 0,1%

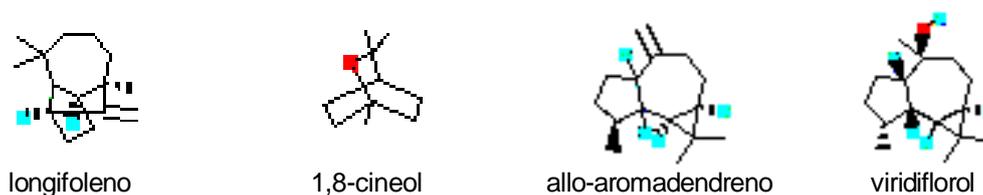


FIGURA 1. Componentes principales del aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia*./ *Main components in Melaleuca quinquenervia essential oil.*

encuentra desde Sydney, a lo largo de la costa norte y este de Australia hasta Nueva Gales del Sur, con ocurrencia aislada cerca de Maryborough, Queensland. Este quimiotipo se subdivide en dos considerando la presencia o ausencia de proporciones significativas de

linalol (14-40%). El quimiotipo 2 contiene 1,8-cineol (10-75%), viridiflorol (13-66%), α-terpineol (0,5-14%) y β-cariofileno (0,5-28%) en diferentes proporciones y orden de dominancia en los aceites (17). La composición del aceite de melaleuca estudiado posee mayor

similitud con el quimiotipo 2, pues coincide la presencia del 1,8-cineol y el viridiflorol. También el valor de rendimiento se encuentra dentro del intervalo informado para el proceso de destilación del aceite de este quimiotipo, obtenido a partir de árboles encontrados al sur de Australia (17).

En la literatura consultada no se encontró antecedentes de la presencia de longifoleno como componente mayoritario del aceite de *M. quinquenervia*. Las discrepancias relacionadas con la composición cualitativa y cuantitativa de los aceites, en cuanto a contenido y presencia de los componentes mayoritarios y la abundancia relativa de los otros componentes presentes como minoritarios, pueden explicarse como consecuencia de variaciones en las condiciones ecológicas (clima, tipo de suelo, estación del año, lugar geográfico) en que se desarrolla la planta, su edad y estado fenológico, diferencias genéticas así como en el método de obtención del aceite (18, 19, 22).

De manera general, muchos de los compuestos identificados en este aceite muestran actividad biológica y constituyen materia prima de importancia comercial. El valor económico y la aplicabilidad industrial de las esencias están directamente relacionados con su composición química, que determina otras propiedades macroscópicas y su actividad biológica, es por ello que conocer como se relaciona la composición química de los aceites con el efecto biológico deseado resulta crucial para enfrentar el gran reto que representa la estandarización de mezclas complejas de materiales vegetales.

En la determinación del efecto antifúngico se observó la inhibición del crecimiento del micelio de *A. solani* con el aceite de *M. quinquenervia* (Figura 2). Estos resultados abren nuevas perspectivas para el control de este patógeno.

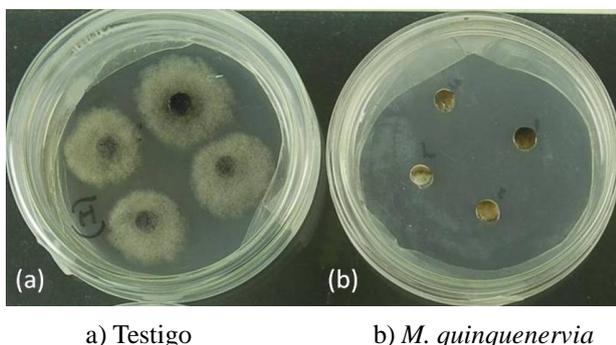
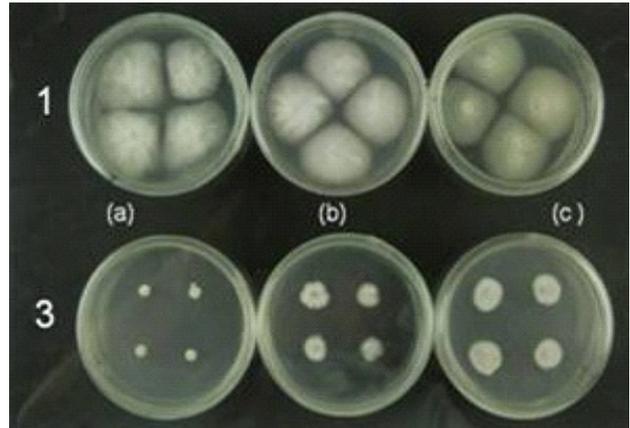


FIGURA 2. Actividad antifúngica del aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia* frente a *Alternaria solani*. / *Antifungal activity of Melaleuca quinquenervia essential oil against Alternaria solani.*

Los resultados de la evaluación de efecto antifúngico del aceite frente a los tres aislados de *Fusarium* sp. evidenciaron la inhibición del crecimiento (Figura 3). La susceptibilidad de estos aislados presentó diferencias, observándose la inhibición mayor frente al F2. Esto indica que este aceite debe ser evaluado con diferentes aislamientos de *Fusarium* para tener una respuesta confiable de su efecto en la inhibición del crecimiento de esta especie.



Fila 1: Testigo, **Fila 3:** Aceite de *M. quinquenervia*
Columna a): aislado F2, **Columna b):** aislado F3, **Columna c):** aislado F141.

FIGURA 3. Actividad antifúngica del aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia* frente a *Fusarium* sp. / *Antifungal activity of Melaleuca quinquenervia essential oil against Fusarium sp.*

No obstante el efecto antifúngico observado frente ambos fitopatógenos evidencia la eficacia y espectro de acción frente a hongos del aceite de *M. quinquenervia* y señala que este puede ser valorado como candidato para el desarrollo de un producto destinado al control de enfermedades fúngicas en la agricultura.

Los resultados de la determinación de la actividad antibacteriana del aceite frente a *X. albilineans* y *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* se muestran en la Tabla 2.

X. albilineans fue la bacteria más sensible a la acción del aceite, frente a *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* solo se evidenció una actividad ligera a la mayor dosis evaluada. El efecto antibacteriano del aceite frente a *X. albilineans* es superior al producido por el antibiótico control. Ambas bacterias son Gram negativas y se conoce que los aceites esenciales son ligeramente más activos sobre las bacterias Gram positivas que sobre las bacterias Gram negativas (23,

TABLA 2. Inhibición del crecimiento de *Xanthomonas albilineans* y *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* provocada por diferentes dosis del aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia*./ *Xanthomonas albilineans* and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* growth inhibition caused by different doses of *Melaleuca quinquenervia* essential oil

Dosis	Halo de inhibición (mm). Clasificación según Toda <i>et al.</i> (15)	
	<i>Xanthomonas albilineans</i>	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>
10,0 µL aceite	45,2 ± 1,1 ^a (marcada)	10,3 ± 0,9 ^d (ligera)
5,0 µL aceite	14,0 ± 0,6 ^c (moderada)	< 8,0 mm ^e (sin actividad)
2,5 µL aceite	11,3 ± 0,2 ^d (ligera)	< 8,0 mm ^e (sin actividad)
10,0 µg Kanamicina	18 ± 0,6 ^b (marcada)	17,5 ± 2,5 ^b (marcada)

Letras diferentes, en una misma columna, indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

24,25), lo que revela las potencialidades antibacterianas del candidato evaluado.

En general, las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales han sido reconocidas durante muchos años y han sido objeto de estudios químicos y biológicos, motivados por sus numerosas aplicaciones etnobotánicas (26) y por ser particularmente útiles como antivirales, antimicóticos y antibacterianos (24, 27). En particular los aceites esenciales de especies del género *Melaleuca* son reconocidos por sus efectos antifúngicos, antisépticos, antiinflamatorio, antiviral, bactericida, cicatrizante, expectorante, inmunoestimulante, entre otros (28, 29).

Para especies de este género, existen estudios relacionados con la actividad antimicrobiana pero generalmente encaminados al control de enfermedades infecciosas importantes en humanos relacionadas con *Staphylococcus aureus* Rosenbach, *Pseudomonas aeruginosa* Schröter, *Escherichia coli* Migula y los hongos *Trichophyton mentagrophytes*, *Candida albicans* Berkhout, *Aspergillus flavus* Link y *Aspergillus fumigatus* Fresenius (30, 31). El efecto bactericida y fungicida del extracto fluido obtenido de las hojas de melaleuca, que crece en el humedal de la Ciénaga de Zapata, se informó previamente frente a 11 microorganismos que incluyeron bacterias, levaduras y hongos filamentosos agentes causales de enfermedades en el hombre y los animales (5).

Sin embargo, no se encontró en la literatura información sobre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de esta planta frente a los microorganismos en estudio. Estos resultados son particularmente importantes si consideramos que estos provocan enfermedades de importancia para los cultivos de la caña de azúcar y hortalizas, cuyo control efectivo no se ha logrado con los tratamientos disponibles.

La diseminación de las bacterias estudiadas ocurre fundamentalmente por semillas infectadas, que son el factor fundamental de dispersión. Este aceite esen-

cial constituye una opción a estudiar y profundizar en el tratamiento de semillas, como alternativa para el control de estos patógenos.

El aceite esencial de *M. quinquenervia* presentó una elevada toxicidad sobre *T. tumidus*, *T. urticae*, *P. citri* y *R. indica* (Tabla 3), aunque los mayores porcentajes de mortalidad se alcanzaron frente a los tres últimos.

TABLA 3. Toxicidad del aceite de *Melaleuca quinquenervia* sobre hembras de *Tetranychus urticae*, *Tetranychus tumidus*, *Panonychus citri* y *Raoiella indica*./ *Toxicity of Melaleuca quinquenervia* essential oil against *Tetranychus urticae*, *Tetranychus tumidus*, *Panonychus citri* and *Raoiella indica* females

Especie	Mortalidad (%)
<i>Raoiella indica</i>	100,00 a
<i>Panonychus citri</i>	100,00 a
<i>Tetranychus urticae</i>	100,00 a
<i>Tetranychus tumidus</i>	88,73 b

Valores seguidos de letras iguales no difieren significativamente ($p \leq 0,05$)

R. indica, es una especie de reciente introducción y difícil control y es de destacar que este constituye el primer informe en el país de la toxicidad de un producto de origen natural sobre el ácaro rojo del cocotero. En nuestras condiciones, el extracto crudo de maíz ha mostrado una elevada efectividad sobre *P. citri* en condiciones de laboratorio y casas de mallas, por lo que con estos resultados se agrega una nueva opción para el control de esta plaga. No se encontraron referencias sobre la evaluación de la actividad acaricida de aceites esenciales sobre *T. tumidus*.

Para el ácaro de las dos manchas, *T. urticae*, por la elevada facilidad con que desarrolla resistencia a los acaricidas químicos, se han evaluado diversas plantas para conocer su posible actividad acaricida.

Miresmailli y Murray (34) evaluaron la efectividad del aceite esencial puro de *R. officinalis*, así como tres acaricidas comerciales elaborados a partir de este aceite, frente a este fitófago, encontrando una elevada toxicidad por contacto directo. En una evaluación de productos comerciales basados en aceites esenciales sobre el ácaro de dos manchas, se encontró que los aceites de semillas de algodón, clavo de olor y ajo, provocaron una mortalidad superior al 90% (35). Al evaluar el efecto acaricida de los aceites esenciales de *Mentha viridis* L., *Laurus nobilis* L., *R. officinalis* y *Thymus palescens* L. sobre *T. urticae* Boulfekhar y Saheb (36) encontraron que los cuatro aceites al 1% provocaron un 100 % de mortalidad de las fases móviles a la 96 horas; mientras que la mortalidad de los huevos fue menor. Estas investigaciones y los resultados del presente trabajo corroboran las potencialidades de los aceites esenciales como acaricidas naturales. La elevada eficacia de este tipo de productos naturales es atribuida en muchos casos a la acción de más de uno de sus componentes y esto es considerado como una barrera efectiva al desarrollo de resistencia de plagas como *T. urticae*.

Por la información consultada, son pocos los estudios registrados sobre la actividad de los aceites esenciales de *M. quinquenervia* sobre ácaros fitófagos, por lo que este estudio enriquece la información sobre esta planta. Los resultados obtenidos potencian las posibilidades que tiene el aceite de *M. quinquenervia* para ser desarrollado como acaricida de origen natural para el control de ácaros fitófagos en diferentes cultivos de interés económico.

En Cuba, los trabajos anteriores sobre aceites esenciales se relacionan fundamentalmente con su empleo en las industrias alimentaria y de los cosméticos; en menor extensión se han estudiado con fines medicinales, aplicaciones relacionadas en muchos casos con el conocimiento de su uso tradicional por la población para diversos fines. Sin embargo, es mucho menor el conocimiento relacionado con sus aplicaciones en la esfera agrícola, particularmente en la sanidad vegetal.

La demanda de los consumidores de adquirir productos agrícolas libres de residuos de plaguicidas incrementa la necesidad de disponer de plaguicidas más seguros en todos los mercados; lo que ha contribuido a que insecticidas, acaricidas, antimicrobianos y herbicidas basados en aceites esenciales posean múltiples aplicaciones agrícolas e industriales. Estos ingredientes activos forman parte de productos destinados al control de plagas en cultivos protegidos, desinfección de semillas, tratamiento de importantes enfermedades que afectan la apicultura (varroosis), entre otros. El espectro de actividad biológica evidenciado

en este estudio por el aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia* indica que este posee potencialidades para el desarrollo de nuevos antimicrobianos y acaricidas para el control de plagas en hortalizas, cítricos y caña de azúcar.

Los resultados obtenidos contribuyen al estudio de las especies aromáticas en Cuba, logrando identificar la naturaleza química de algunos principios activos con actividad plaguicida, lo que permitirá un mejor aprovechamiento de los recursos naturales con los que cuenta el país y propiciará la explotación sostenible de nuevos productos. Los conocimientos adquiridos son de importancia para la naciente industria de aceites esenciales como fuente de plaguicidas, que necesita una base científica sólida y la justificación para la selección correcta de especies vegetales promisorias, su cultivo industrial, el procesamiento y la obtención de esencias, con miras a satisfacer los mercados nacional e internacional con productos de calidad garantizada y alto valor agregado.

REFERENCIAS

1. Larenas Parada Giovanna, de Viana Marta L, Chafatinos T, Escobar Nieves E. Relación suelo-especie invasora (*Tithonia tubaeformis*) en el sistema ribereño del río Arenales, Salta, Argentina. *Ecol Austral*. 2004;14(1).
2. Avendaño Bárbara. Cita con el humedal. *Bohemia*. 2007;102.
3. Roig JT. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana: Editorial Científico-Técnica; 1974. 1125p.
4. Rodríguez LE. Posibilidades del empleo en formas farmacéuticas del extracto fluido y el aceite esencial de *Melaleuca leucadendron* L. [Tesis de Maestría]. Habana: Universidad de la Habana; 1997.
5. Guevara Pérez E, Cabrera Dorta T, Peña Ruiz T, Fernández Rodríguez CJ, Quintana Guevara I, Fernández Rodríguez E. Efecto antimicrobiano de hojas de *Melaleuca leucadendron* L, que crece en la Ciénaga de Zapata. *Rev Med Electrón*. 2010; 32(4).
6. Rodríguez Pérez M, Martínez JM, Rivero LR, Álvarez HMH, Valdez AFC, Rodríguez DA, et al. Evaluación de la actividad antimalárica de algunas plantas utilizadas en la medicina tradicional cubana. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*. 2006; 27(3):197-205.

7. Anthony JA, Fyfe L, Smith H. Plant active components- a resource for antiparasitic agents? *Trends Parasitol.* 2005; 21:462-468.
8. Farag RS, Shalaby AS, El-Baroty GA, Ibrahim NA, Ali MA, Hassan EM. Chemical and biological evaluation of the essential oils of different *Melaleuca* species. *Phytother Res.* 2004; 18:30-35.
9. Amer A, Mehlhorn H. Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* mosquitoes. *Parasitol Res.* 2006; 99:478-490.
10. Leyva M, Marquetti MC, Tacoronte JE, Scull R, Tiomno O, Mesa A, et al. Actividad larvicida de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* (L.) (*Diptera: Culicidae*). *Rev Biomed.* 2009; 20:5-13.
11. Menéndez JM, Berrios María del Carmen, Quert R. Estudio preliminar sobre el efecto repelente de los aceites esenciales de tres especies de la familia *Myrtaceae* sobre *Wasmannia auropunctata* (Roger) (*Hym. Formicidae*). *Revista Baracoa.* 1992; 22(2):47-49.
12. Isman MB. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* 2006; 51: 45-66.
13. International Standardization Organization. ISO 6571. Spices, condiments and herbs- Determination of volatile oil content. 1984. (Norma ISO).
14. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. 1997; 17: 234-238.
15. Toda M, Okubo S, Mara Y, Shimamura T. Antibacterial and bactericidal activities of tea extracts and catechins against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Jap J Bacteriol.* 1991; 46(5):845-849.
16. Dennehy T, Farnham A, Denholm I. The microimmersion bioassay: A novel method for the topical application of pesticides to spider mites. *Pestic Sci.* 1993; (39):47-54.
17. Ireland BF, Hibbert DB, Goldsack RJ, Doran JC, Brophy JJ. Chemical variation in the leaf essential oil of *Melaleuca quinquenervia* (Cav) S.T Blake. *Biochemical Systematics and Ecology.* 2002 May; 30(5): 457-470.
18. Durán DC, Monsalve LA, Martínez JR, Stashenko EE. Estudio comparativo de la composición química de aceites esenciales de *Lippia alba* provenientes de diferentes regiones de Colombia y efecto del tiempo de destilación sobre la composición del aceite. *Scientia et Técnica.* 2007; 33: 435-437.
19. Mesa AC, Montiel J, Martínez C, Zapata B, Pino N, Bueno JG, et al. Actividad *in vitro* anti-cándida y anti-aspergillus de aceites esenciales de plantas de la familia *Piperaceae*. *Scientia et Técnica.* 2007 Abr; XIII(033): 247-249.
20. Joulain D. Investigating New Essential Oils: Rationale, Results and Limitations. *Perfumer & Flavorist.* 1996;21:1-10.
21. Pino JA. Estudio de los componentes volátiles de las hojas de especies de *Myrtaceae* en Cuba. En: I Congreso Iberoamericano de Química, Bioquímica e Ingeniería Química y VII Congreso Internacional de Química e Ingeniería Química: Nuevas Fronteras de la Química, Cuba. 2009 Octubre. (Conferencia).
22. Hayouni EA, Bouix M, Abedrabba M, Jean-Yves Leveau, Hamdi M. Mechanism of action of *Melaleuca armillaris* (Sol. Ex Gaertn) Sm. essential oil on six LAB strains as assessed by multiparametric flow cytometry and automated microtiter-based assay. *Food Chemistry.* 2008; 111(3): 707-718.
23. Mitić-Ćulafić D, Vuković-Gačić B, Knežević-Vukčević J, Stanković S, Simić D. Comparative study on the antibacterial activity of volatiles from sage (*Salvia officinalis* L.). *Arch Biol Sci., Belgrade.* 2005;57(3):173-178.
24. Bosnić T, Softić D, Grujić-Vasić J. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils and Major Constituents of Essential Oils. *Basic Science.* 2006; 35:19-22.
25. Nair R, Chanda SV. Antibacterial Activities of Some Medicinal Plants of the Western Region of India. *Turk J Biol.* 2007; 31: 231-236.
26. Ajayi IA, Jonathan SG, Adewuyi A, Oderinde RA. Antimicrobial Screening of the Essential Oil of Some Herbal Plants from Western Nigeria. *World Applied Sciences Journal.* 2008; 3 (1): 79-81.

27. Castañeda ML, Muñoz A, Martínez JR, Stashenko E. Estudio de la composición química y la actividad biológica de los aceites esenciales de diez plantas aromáticas colombianas. *Scientia et Técnica*. 2007 Abr; XIII (033):165-166.
28. Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of the mayor components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *J Appl Bacteriology*. 1995; 78: 264-269.
29. Maguna FP, Romero AM, Garro OA, Okulik NB. Actividad antimicrobiana de un grupo de terpenoides. Facultad de Agroindustrias, UNNE, Argentina. [Comunicaciones Científicas y Tecnológicas en Internet] 2006 [consultado: 9 Oct 2008] Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/>.
30. López A, Hudson JB, Towers GH. Antiviral and antimicrobial activities of Colombian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol*. 2001; 77: 189-196.
31. Pino BN, Melendez E, Stashenko EE. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de hojas de *Piper lanceaefolium*, planta usada tradicionalmente en Colombia. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 2009; 8 (4): 301-304.
32. Jiménez O, Contreras N. Nota técnica Respuesta de 11 variedades de caña de azúcar a la escaldadura foliar (*Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson) y evaluación de dos métodos de inoculación. *Bioagro*. 2009 Agosto; 21(2).
33. Nazari F, Niknam G R, Ghasemi A, Taghavi S M, Momeni H, Torabi S. An Investigation on Strains of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in North and North West of Iran. *J Phytopathology*. 2007; 155:563-569.
34. Miresmailli S, Murray BI. Efficacy and Persistence of Rosemary Oil as an Acaricide against Twospotted Spider Mite (*Acari: Tetranychidae*) on Greenhouse Tomato. *J Econ Entomol*. 2006 ; 99(6): 2015-2023.
35. Cloyd RA, Galle CL, Keith SR, Kalscheur NA, Kemp KE. Effect of Commercially Available Plant-Derived Essential Oil Products on Arthropod Pests. *J Econ Entomol*. 2009; 102(4):1567-1579.
36. Boulfekhar H, Saheb D. Chemical composition and acaricidal activity of 4 essential oils against *Tetranychus urticae* Koch (*Acari: Tetranychidae*). En: *Integrative Acarology*. Bertrand M, Kreiter S, McCoy KD, Migeon A, Navajas M, Tixier MS, Vial L. (Eds). European Association of Acarologists. Proceedings of the 6th European Congress; 2008 July 21-25; Montpellier.435-442.

(Recibido 1-2-2011; Aceptado 29-4-2011)