



Efectos insecticidas y antifúngicos de una nueva variedad de ajeno (*Artemisia absinthium* L.) - ensayos preliminares

Juliana Navarro Rocha¹, Jesús Burillo¹ y Azucena González-Coloma²

¹ Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, Gobierno de Aragón, Avda. Montañana, 930, Zaragoza, Spain

² Instituto de Ciencias Agrarias, CSIC. Serrano 115-dpdo, 28006 Madrid, Spain

El mercado global de protección de cultivos puede alcanzar en 2021 los 70,57 billones de dólares, con un crecimiento estimado en los próximos cuatro años del 5,15%. Este mercado procura disminuir pérdidas de producción debido a ataques de plagas, atender al aumento poblacional y fomentar el uso de alternativas más sostenibles, como son los biopesticidas. El cambio reciente en las prácticas agrícolas debido a las nuevas tecnologías o prácticas como el Manejo Integrado de Plagas (MIP) es lo que direcciona la demanda por la protección química de los cultivos en el sector agrícola.

Según el tipo, el mercado de protección química de cultivos se divide en herbicidas, con la mayor presencia en el mercado, insecticidas, fungicidas y nematocidas.

Especies del género *Artemisia* son tradicionalmente usadas como vermífugos (Ramasubramanaraja y Niranjana Babu 2010) y algunos de sus extractos y componentes como agentes nematocidas de plantas y animales (D'Addabbo *et al.* 2013). *Artemisia absinthium* L. (ajeno) es una planta aromática y medicinal cuyos aceites son ricos en tuyonas y presentan efectos acaricidas (Chiasson *et al.* 2001), insecticidas (Kaul *et al.* 1978) y fungicidas (Carnat *et al.* 1992).

Entre los principales componentes de sus aceites esenciales están α y β -tuyonas, mirceno, sabinil acetato (trans), β -pinano, 1,8-cineol, camfor, cis-epoxiocimeno, crisantenil acetato (Carnat *et al.*, 1992; Chialva *et al.*, 1983; Geszprych *et al.*, 2011 y Judzentiene *et al.*, 2012) y otros, dependiendo del origen de la planta.

A. absinthium es abundante en las formaciones montañosas de España, siendo una especie ruderal utilizada en la medicina tradicional. Existen siete quimiotipos descritos en la Península Ibérica y algunos de ellos no presentan tuyonas en su composición (Ariño *et al.*, 1999). Sin embargo el uso de poblaciones silvestres de la especie puede resultar en extractos de composiciones variables. Existe el quimiotipo cis-epoxiocimeno (con más del 50% de este compuesto) que

es predominante, y el tipo cis-epoxiocimeno + crisantenil acetato (con 25-65% de cis-epoxiocimeno y 15-50% de crisantenil acetato).

DOMESTICACIÓN Y OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL

La población para los ensayos de campo se iniciaron con semillas de plantas recolectadas de una población libre de tuyonas, cultivada en Teruel (España), que resultaron en los ensayos de pre-domesticación en dos localidades (Ejea de los Caballeros y Teruel) (Burillo, 2009). 30 plantas en floración fueron seleccionadas y recolectadas anualmente y procesadas para la obtención del aceite esencial (EO) por hidrodestilación en Clevenger (HD). El aceite esencial de esta población, durante los 5 años, se caracterizó por la presencia de cis-epoxiocimeno, crisantenol y crisantenil acetato principalmente, en proporciones que le incluye en el tipo cis-epoxiocimeno + crisantenil acetato, con ausencia de tuyonas.

Estos ensayos de pre-domesticación sirvieron para los ensayos de domesticación, formados por plantas originadas de semillas del anterior, individualmente seleccionadas con base a su producción en biomasa y rendimiento en aceite esencial por HD (Burillo, 2009; González-Coloma *et al.* 2012). El ensayo se inició en 2008, en Ejea de los Caballeros (**Figura 1**), cuando las plantas en floración eran recolectadas anualmente para su evaluación



Figura 1. Parcela experimental de ajeno en Ejea de los Caballeros.





Tabla 1. Producción de biomasa y aceite esencial (VP) para el ensayo de domesticación en campo de *A. absinthium* L.

Producción por planta (Kg)	1,61	1,76	1,60	1,91	1,40	1,63	1,47	1,63
Producción por ha (Kg/ha)	21,49	23,3	21,35	25,44	18,70	21,674	19,66	21,69
Aceites esenciales por planta (ml)	2,81	2,10	2,53	3,57	3,79	2,3	2,80	2,85
Aceites esenciales por ha (m/ha)	37,51	28,00	33,79	47,66	55,45	31,53	40,76	39,24

Tabla 2. Composición química del aceite esencial (VP) de diferentes muestras de *A. absinthium*. Valores expresos como media de individuos durante los años de cultivo (2008-2014) en Ejea de los Caballeros.

Compuestos	% área
α -Pino	2.1 (1.5 - 2.7)
1,8-Cineol	2.1 (1.7 - 2.4)
Linalool (5)	3.8 (2.1 - 5.1)
(-)-(Z)-Epoxiocimeno (1)	43.0 (38.9 - 44.1)
(E)-Epoxiocimeno	1.4 (0 - 3.0)
Camfor (6)	4.7 (2.8 - 7.7)
(-)-cis-Crisantenol(2)	11.9 (10.4 - 12.7)
Crisantenil acetato (3)	6.6 (5.5 - 7.4)
Trans-cariofileno	4.0 (3.4 - 4.2)
γ -Cadineno	1.8 (1.3 - 2.8)

Tabla 3. Efectos antialimentarios de la población cultivada de *A. absinthium* (Ejea de los Caballeros).

<i>L. decemlineata</i>	<i>S. littoralis</i>	<i>M. persicae</i>	<i>R. padi</i>
%Fla		%Sla	
73.2	54.2	51.7	18.4
(63.5 - 86.3)	(43.3 - 62.8)	(47.6 - 54.2)	(8.4 - 23.6)

^a Porcentaje de inhibición

Tabla 4. Efectos antifúngicos (inhibición de crecimiento micelial) de extractos VP (destilación a vapor) de una población cultivada y domesticada de *A. absinthium*. Valores expresados por la media de muestras individuales de todos los años evaluados, en 1mg/ml.

Extracto	Hongos			
	<i>F. moniliforme</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>B. cinerea</i>
VP	100	100	100	100
ED50 a	(0.24 - 0.43)	(0.29 - 0.40)	(0.24 - 0.50)	(0.01 - 0.07)

^a ED50, concentración (mg/ml) necesaria para producir la inhibición del 50% del crecimiento micelial

agronómica y extracción de aceites esenciales, en una planta semi-industrial de extracción a vapor (VP).

Las evaluaciones se dieron de 2008 hasta el 2014. Los datos generales obtenidos para este ensayo están reflejados en la **Tabla 1**.

El análisis químico del aceite de la población de *A. absinthium* L. se encuentra en la **Tabla 2**.

Como el principal objetivo del proceso de domesticación de *A. absinthium* sin tuyonas era obtener producciones de biomasa y composición química de su aceite esencial estables para posible utilización en protección de cultivos, el presente estudio agronómico culminó con el registro de la variedad de ajeno (^oCandial).

BIOENSAYOS

Los insectos seleccionados para ensayos antialimentarios incluyen plagas agrícolas con diferentes adaptaciones tróficas (polívoros y específicos): dos especies masticadoras (*Spodoptera littoralis*, *Leptinotarsa decemlineata*) y dos especies chupadoras (los áfidos *Myzus persicae* y *Rhopalosiphum padi*) (Bailen *et al.*, 2013). *L. decemlineata* y *S. littoralis* se mostraron moderadamente sensibles al aceite esencial en cuestión (**Tabla 3**).

El aceite esencial de la población domesticada también ha sido ensayado en 4 especies de hongos de importancia agrícola (*Fusarium Moniliforme*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* y *Botrytis cinerea*) (Bailen *et al.*, 2013). Los resultados fueron una elevada actividad antifúngica, siendo *B. cinerea* la especie más sensible (**Tabla 4**).

La actividad nematocida *in vitro* e *in vivo* del aceite esencial



(VP) de la variedad Candial, contra dos nemátodos parásitos *Trichinella spiralis* (animal) y *Meloidogyne javanica* (de raíces) también ha sido evaluada. El aceite esencial mostró una elevada actividad nematocida *in vitro* para *T. spiralis*, siendo también activo *in vivo* (Tabla 5).

CONCLUSIÓN

Una población Española de *A. absinthium* libre de tuyonas fue sometida a un proceso de domesticación que resultó en una baja variación química y altos rendimientos en biomasa y aceites esenciales, permitiendo el registro de una nueva variedad vegetal del ajeno ([®]Candial). Los principales componentes del aceite esencial de la nueva variedad fueron cis-epoxiocimeno, crisantenol, crisantenil acetato, trans-cariofileno y linalool.

El aceite de la variedad Candial (VP) se mostró, en ensayos preliminares, moderadamente activo contra las plagas agrícolas *L. decemlineat* y *S. littoralis*; además de una importante actividad antifúngica contra *B. vinerea*.

Tabla 5. Actividad *ex vivo* del aceite esencial de una población cultivada de *A. absinthium* contra larva muscular L1 de *T. spiralis*. Resultados expresos en medias \pm error estándar (SE) de lombrices adultas (AW) recubiertas de intestino de ratones infectados con larvas tratadas *ex vivo* (2 repeticiones).

EO (mg/ml)	Actividad nematocida	
	AW	LRa %*
0.03	100.99 \pm 7.4	9.83
0.06	80.13 \pm 7.72	28.38
0.12	60.50 \pm 4.87	45.92
0.25	57.00 \pm 6.05	49.05
0.50	31.00 \pm 6.29	72.29
1	0.09 \pm 0.36	99.92

*Rango de reducción larval ($p < 0.05$)

REFERENCIAS

Ariño A, Arberas I, Renobales G, Arriaga S, Dominguez JB. 1999. Essential oil of *Artemisia absinthium* L. from the Spanish pyrenees. *Journal of Essential Oil Research*, 11:182-184.

Bailen M, Julio LF, Diaz CE, Sanz J, Martínez-Díaz RA, Cabrera R, Burillo, J y González-Coloma A. 2013. Chemical composition and biological effects of essential oils from *Artemisia absinthium* L. cultivated under different environmental conditions. *Industrial Crops and Products*, 49: 102-7.

Burillo J. 2009. Cultivo experimental de ajeno *Artemisia absinthium* L. como potencial insecticida de origen natural. Páginas 19-30 en Burillo, J; González-Coloma, A. (Eds.), *Insecticidas y Repelentes De Origen Natural*. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria Zaragoza.

Carnat AP, Madesclaire M, Chavignon O y Lamaison JI. 1992. cis-chrysanthenol, a main component in essential oil of *Artemisia absinthium* L. growing in Auvergne (Massif Central), France. *Journal of Essential Oil Research*, 4: 487-490.

Chialva F, Liddle AP y Doglia G. 1983. Chemotaxonomy of wormwood (*Artemisia absinthium* L.) I. Composition of the essential oil of several chemotypes. *Z Lebensm Unters Forsch*. 176: 363-366.

Chiasson H, Belanger A, Bostanian N, Vincent C y Poliquin A. 2001. Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. *Journal of Economic Entomology*, 94(1): 167-171.

D'Addabbo T, Carbonara T, Argentieri MP, Radicci V, Leonetti P, Villanova L y Avato P. 2013. Nematicidal potential of *Artemisia annua* and its main metabolites. *European Journal of Plant Pathology*. 137(2): 295-304.

Geszprych A, Przybył J, Kuczerenko A y Węglarz Z. 2011. Diversity of Wormwood (*Artemisia absinthium* L.) Growing Wild in Poland in Respect of the Content and Composition of Essential Oil and Phenolic Compounds. *Acta Horticulturae*, 123-129.

Gonzalez-Coloma A, Bailen M, Diaz CE, Fraga BM, Martínez-Díaz R, Zuñiga GE, Contreras RA, Cabrera R y Burillo J. 2012. Major components of Spanish cultivated *Artemisia absinthium* populations: Antifeedant, antiparasitic, and antioxidant effects. *Industrial Crops and Products*, 37: 401-407.

Judzentiene A, Budiene J, Gircyte R, Masotti V y Laffont-Schwob I. 2012. Toxic Activity and Chemical Composition of Lithuanian Wormwood (*Artemisia absinthium* L.) Essential Oils. *Records of Natural Products*, 6: 180-183.

Kaul VK, Nigam SS y Banerjee AK. 1978. Insecticidal activity of some essential oils. *Indian Journal of Pharmacology*, 40: 22.

Ramasubramaniraja R y Niranjana Babu M. 2010. Antihelminthic studies and medicinal herbs – an overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences* 5: 39-47.

